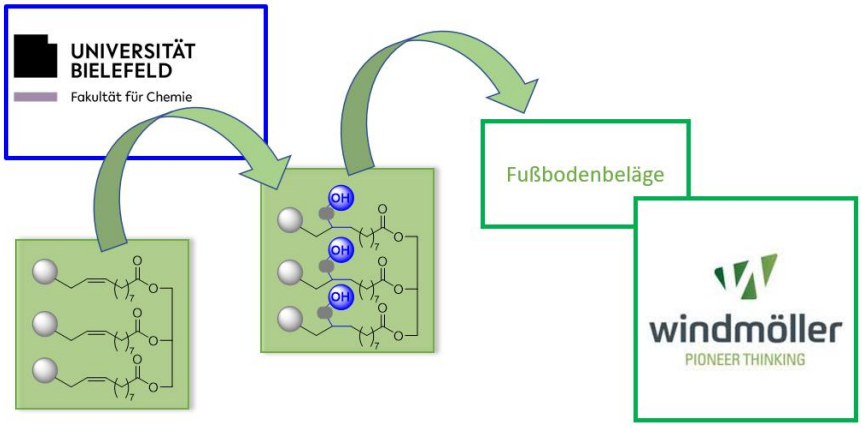
Abschlussbericht

Bio-Polyole für Hochleistungsverbundwerkstoffe aus heimischen Pflanzenölen

BMFTR-Machbarkeitsphase „IBÖM07: BioPolyole II“

Gefördert durch:

Bundesministerium
für Forschung, Technologie
und Raumfahrt



Förderkennzeichen:
031B1249

Laufzeit des Vorhabens:
01.07.2022 – 30.06.2024

Zuwendungsempfänger:
Universität Bielefeld

Ausführende Stelle:
Lehrstuhl für Industrielle Organische Chemie und Biotechnologie
Fakultät für Chemie, Universität Bielefeld
Postfach 10 01 31, 33501 Bielefeld

Projektleitung:
Prof. Dr. Harald Gröger

I. Kurze Darstellung zu

1. Aufgabenstellung

Das Ziel des Projektvorhabens bestand in der Entwicklung maßgeschneiderter Hydroxy-funktionalisierter Pflanzenöle aus heimischen, nachwachsenden Rohstoffen, die als Bausteine für die Synthese und Produktion bio-basierter Polyurethane und nachhaltiger Hochleistungsverbundwerkstoffe für anspruchsvolle Fußbodenbeläge benötigt werden und für die schon jetzt eine große Nachfrage gibt („*market pull*“). Ein Marktführer auf dem Gebiet der Polyurethan-basierten Bodenbeläge ist das Familienunternehmen Windmöller, das in Ostwestfalen ansässig ist und großes Interesse an der Produktion von Polymeren aus heimischen Rohstoffen zeigt. Der Gesellschafter und Bodenbelag-Pionier Herr Ulrich Windmöller ist in diesem Projekt als Wirtschaftsexperte Teil des Teams.
Für die Synthese von Polyurethan-Bausteinen aus heimischen, nachwachsenden Rohstoffen müssen die Ausgangsverbindungen so funktionalisiert werden, dass die Zielmoleküle zwei bzw. idealerweise drei Hydroxygruppen pro Pflanzenmolekül enthalten, damit sie polymerisiert werden können, was durch verschiedene Routen im Rahmen dieses Projektvorhabens erarbeitet wird (Abbildung 1).

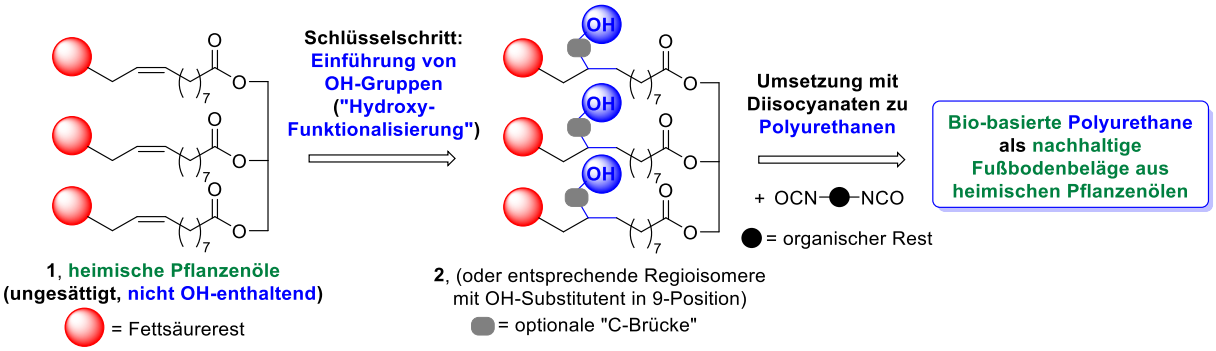


Abbildung 1. Konzept der Produktion von Bodenbelägen aus Pflanzenöl-basierten Bio-Polyolen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Forschungsvorhaben wurde wesentlich an der Universität Bielefeld in der Arbeitsgruppe „Industrielle Organische Chemie & Biotechnologie“ unter Leitung von Prof. Dr. Harald Gröger durchgeführt. Die universitären Arbeiten wurden eng begleitet durch den Wirtschaftsexperten Ulrich Windmöller, der Gesellschafter des in Ostwestfalen ansässigen Familienunternehmens Windmöller ist und langjährige Erfahrung auf dem Gebiet der Fußbogenbeläge aufweist. Neben der fachlichen Beratung durch den Wirtschaftsexperten wurden in seiner Firma auch Experimente durchgeführt. Somit wurde das Projekt in enger Vernetzung universitärer Forschung mit industriellen Anforderungen durchgeführt.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Projekt stellt die Fortsetzung eines in der Sondierungsphase als „*proof-of-concept*“ gezeigten Forschungsansatzes dar. Bereits in der Sondierungsphase war mit einer ausführlichen Literatur-Studie begonnen worden, die auch in der hier dargestellten Machbarkeitsphase fortgesetzt wurde und sich durch das ganze Projekt zog. Zum Erreichen des Projektzieles wurden nach parallel beide Prozesskonzepte verfolgt, in denen Konzept (A) den Einsatz eines Enzyms und Prozess (B) eine chemokatalytische Route vorsah. Beide Routen wurden parallel bearbeitet. Die im Projekt erzielten (Zwischen)Ergebnisse wurden regelmäßig zusammengefasst und in internen Besprechungen innerhalb

des universitären Teams sowie mit dem Wirtschaftsexperten erörtert und das weitere Vorgehen hierbei beraten. Hierfür wurden insbesondere Online-Videokonferenzen genutzt. Als ein Highlight dieses Projektes kann herausgestellt werden, dass im Laufe des Projektes größere Mengen eines Musters hergestellt werden konnten und hieraus beim Wirtschaftsexperten eine Vorführware in Form eines Schaumstoffs bzw. Fußbodenbelags hergestellt werden konnte, der verschiedenen Anforderungstests unterzogen werden konnte und zu vielversprechenden Ergebnissen führte.

4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde, insbesondere (a) Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte, die für die Durchführung des Vorhabens benutzt wurden, und (b) Angabe der verwendeten Fachliteratur sowie der benutzten Informations- und Dokumentationsdienste

Um das Projekt durchführen zu können, wurde in vielerlei Hinsicht auf einen Stand der Wissenschaft und Technik angeknüpft, der schon vor Beginn der Projektlaufzeit etabliert war.
(a) Zur Bearbeitung von Prozesskonzept (A) wurden die für die biokatalytischen Reaktionen benötigten Enzyme mit Hilfe der rekombinanten Enzymexpression im Bakterium *Escherichia coli* verfügbar gemacht; dabei handelt es sich um Standard-Verfahren, die lange vor Beginn der Projektlaufzeit in den Laboren der Arbeitsgruppe eingesetzt wurden und in denen eine große Expertise vorlag. Auch die Technologien der Analyse und Aufarbeitung von Enzymen sind umfänglich beschrieben; mit vielen der hier verwendeten Enzymklassen lag in der Arbeitsgruppe eine umfangreiche Vorerfahrung vor. Des Weiteren wurde zur Entwicklung des Prozesskonzeptes (B) die Hochdruckreaktionstechnik eingesetzt, insbesondere zur Hydroformylierung und Hydrierung in Autoklaven, die in einem Pilottechnikum an der Universität Bielefeld unter höchstem Sicherheitsstandard durchgeführt kann. Dieses Technikum stand bereits vor Beginn des Forschungsvorhabens zur Verfügung und konnte für die vorliegenden Experimente genutzt werden, zudem wurde im Rahmen des Projekts ein 1L-Reaktorsystem etabliert und erfolgreich für die Maßstabsvergrößerung der Hydroformylierung genutzt. Die grundlegenden Prozesstechnologien gehören zum aktuellen Stand der Wissenschaft und Technik etabliert, die Übertragung auf die hier bearbeitete Forschungsfrage ist hingegen neu und bisher unbeschrieben.
(b) Die Arbeiten wurden von intensivem Literaturstudium begleitet; die konkreten Literaturstellen sind in Teil II des Berichtes in der eingehenden Darstellung zu finden.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Projekt wurde in den Räumlichkeiten der Universität Bielefeld in den Laboren der Arbeitsgruppe Industrielle Organische Chemie und Biotechnologie unter Leitung von Prof. Dr. Harald Gröger durchgeführt. Wie oben erläutert wurde mit dem Wirtschaftsexperten Ulrich Windmöller zusammengearbeitet, in dessen Firmen der Windmöller-Gruppe (Windmöller sowie U. Windmöller Innovation) auch gemäß dem Projektplan für dieses BMBF-Projektvorhaben „BioPolyole-II“ (Machbarkeitsphase) experimentelle Arbeiten durchgeführt wurden.

II. Eingehende Darstellung

1. der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

a) Einführung in das Forschungsvorhaben

Das Ziel des Projektvorhabens bestand in der Entwicklung maßgeschneiderter Hydroxy-funktionalisierter Pflanzenöle aus heimischen, nachwachsenden Rohstoffen, die als Bausteine für die Synthese und Produktion bio-basierter Polyurethane und nachhaltiger Hochleistungs-verbundwerkstoffe für anspruchsvolle Fußbodenbeläge benötigt werden; schon jetzt gibt es hierfür eine große Nachfrage (*„market pull“*). Ein Marktführer auf dem Gebiet der Polyurethan-basierten Bodenbeläge ist das in Ostwestfalen ansässige Familienunternehmen Windmöller, das an der Produktion von Polymeren aus heimischen Rohstoffen Interesse hat. Der Gesellschafter und Bodenbelag-Pionier Herr Ulrich Windmöller nimmt in diesem Projekt als Wirtschaftsexperte teil und Firmen der Windmöller-Gruppe waren zudem gemäß Projektplan aktiv als Projektpartner involviert.
Für die Synthese von Polyurethan-Bausteinen aus heimischen, nachwachsenden Rohstoffen müssen die Ausgangsverbindungen so funktionalisiert werden, dass die Zielmoleküle zwei bzw. idealerweise drei Hydroxygruppen pro Pflanzenmolekül enthalten, damit sie polymerisiert werden können. Grundsätzlich sollen dabei im Rahmen des Projektes zwei komplementäre Ansätze zu mehrfach Hydroxy-substituierten Pflanzenölen untersucht werden (Abbildung 2): Im **Prozesskonzept A** sollen die Hydroxygruppen mit Enzymen, konkret mit Hydratasen, eingeführt werden, sodass Verbindungen des Typ **2a** erzielt werden.
Im hierzu komplementären **Prozesskonzept B** steht die Einführung der Hydroxy-Gruppe durch eine Kombination von Hydroformylierung und Hydrierung in Gegenwart von Syngas unter erhöhtem Druck im Fokus. Bei den hierdurch zugänglichen Verbindungen des Typs **2b** ist (im Vergleich zu den Verbindungen vom Typ **2a**) jeweils noch eine „C-Brücke“ zusätzlich zu der Hydroxy- Gruppe eingebaut, was die Möglichkeit zur Polymerisierung aber nicht schmälert.

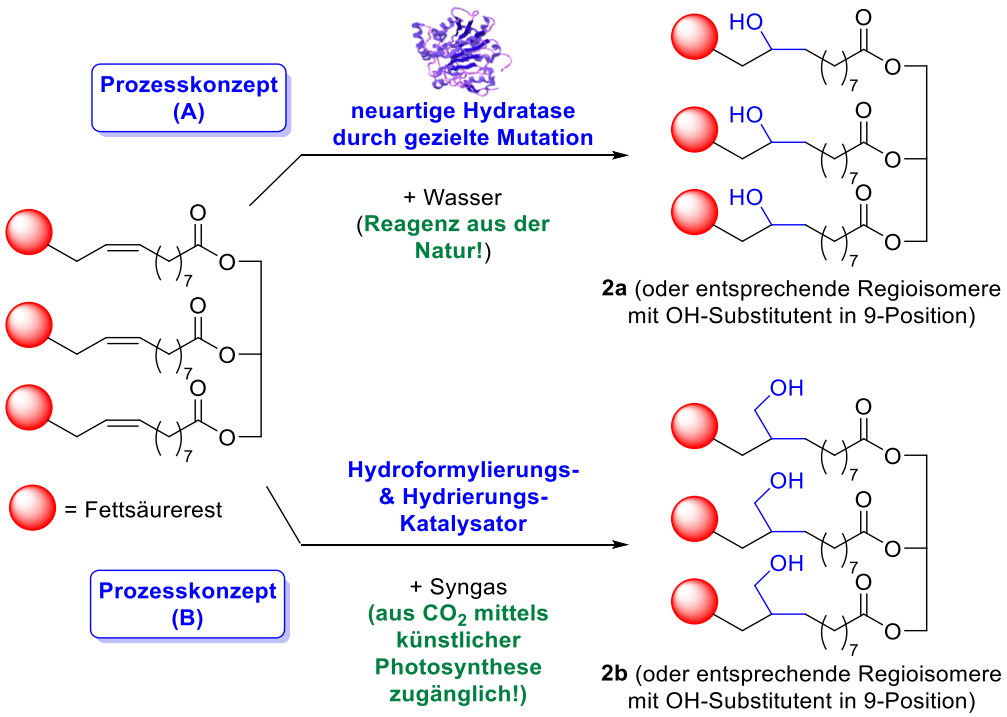


Abbildung 2. Komplementäre Prozesskonzepte zu BioPolyolen **2a** und **2b** für Fußbodenbeläge.

In den folgenden Abschnitten b) und c) sind die Ergebnisse aus den jeweiligen Prozessrouten detailliert dargestellt: in Abschnitt b) wird über die Ergebnisse aus Prozesskonzept A zur Herstellung Hydroxy-substituierter Fettsäuren mittels Enzymen berichtet, während in Abschnitt c) die Ergebnisse aus dem Prozesskonzept B erläutert werden, in denen mittel Hydroformylierung und Hydrierung Verbindungen des Typs **2b** erhalten werden sollen.

b) Prozesskonzept A: Enzymatische Hydratisierung von Fettsäuren und Fettsäure-Estern zu BioPolyolen

Die enzymatische Hydratisierung wurde bereits im ersten Teil des Projekts („Sondierungsphase BioPolyole“) initial mit der Enzymklasse der Fettsäurehydratasen (FAHs) untersucht. Zum damaligen Bearbeitungszeitraum standen in der Arbeitsgruppe sechs verschiedene FAHs zur Verfügung, wobei es sich um eine Mischung von Enzymen aus verschiedenen Ursprungsorganismen, aber auch von durch Mutagenese erzielte Enzym-Varianten handelte. Diese Enzyme waren für die Umsetzung der freien Fettsäuren teils sehr gut geeignet, zeigten aber Limitierungen, sobald es um den Einsatz von Estern der Fettsäuren als Substrate ging. Daher wurde nun in der Literatur nach weiteren FAHs recherchiert und Zugang zu nun insgesamt 24 Enzymen hergestellt, die nun für die weitere Bearbeitung des Projektes im Rahmen der Machbarkeitsphase standen. Die Enzyme (inklusive der sechs bereits in der Sondierungsphase bearbeiteten) sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Auflistung aller verwendeten Fettsäurehydratasen mit zugehöriger UniProt- (oder NCBI)-Nummer (bei Mutanten nicht vorhanden). Mutanten sind durch die Nennung der ausgetauschten Aminosäuren in Klammern hinter der Abkürzung gekennzeichnet.

Enzymabkürzung	Organismus	UniProt-Nummer
EmOHy[1–4]	*Elizabethkingia meningoseptica*	C7DLJ6
LacFAH1[1]	*Lactobacillus acidophilus ATCC 700396*	X5G6J2
GmoFAH[1]	*Gemella morbillorum*	A0A6I6BKS9
CglFAH[1]	*Chryseobacterium gleum*	A0A448B1L4
HfifffAH[1]	*Holdemania filiformis*	A0A412G6F9
DbaFAH[1]	*Desulfomicrobium baculatum*	C7LRD0
SspFAH[1]	*Stenotrophomonas sp. KCTC 12332.*	A0A126NKL7
SmaFAH[1]	*Stenotrophomonas maltophilia*	B2FNU0
LfuFAH[1]	*Lysinibacillus fusiformis*	NCBI: WP_004228566.1
RerFAH[1]	*Rhodococcus erythropolis*	T5I9M6
LplFAH[1,5]	*Lactobacillus plantarum*	G9MAP1
LacFAH2[1]	*Lactobacillus acidophilus*	Q5FLI8
CspFAH[1]	*Clostridium sp. Marseille-P299*	NCBI: WP_066720947.1
AjoFAH[1]	*Actinomyces johnsonii F0510*	U1RCG1
CteFAH[1]	*Clostridium tepidiprofundi*	A0A151B4H7
LamFAH[1]	*Lactobacillus amylolyticus*	A0A1V0JDR6
EmOHy (A248V)	*Elizabethkingia meningoseptica*	-
EmOHy (A48I_T549S)	*Elizabethkingia meningoseptica*	-
EmOHy (A248L)[6]	*Elizabethkingia meningoseptica*	-
EmOHy (Q265A_T436A_N438A)[7]	*Elizabethkingia meningoseptica*	-
MhOHy[1]	*Marinotoga hydrogenitolerans*	A0A1M4ZV03
LrOHy[8]	*Lactobacillus rhamnosus*	A0A179WRT1
LaOHy[9]	*Lactobacillus acidophilus*	A0A1W7GXD3
SnOHy[10]	*Stenotrophomonas nitritireducens*	A0A126NKL7
LaLhy		

b-I) Umsetzung von Methyloleat als *step stone* zur Umsetzung von Fettsäure-Estern

Bereits in der Sondierungsphase waren einige Fettsäure-Hydratasen gescreent worden, um zu untersuchen, ob eine enzymatische Hydroxylierung von Triglyceriden möglich sein könnte. Die dort untersuchten sechs Enzyme zeigten allerdings keine Umsetzung. Daher wurde als eine in der Komplexität und im sterischen Anspruch reduzierte Form der Triglyceride nun zunächst nur ein Methyl-Ester einer Fettsäure untersucht, konkret wurde Methyloleat gewählt. Hintergrund war, dass der Wunsch bestand, als Ausgangsbasis für die Polyurethane das einheimische Sonnenblumenöl zu nutzen und die darin am häufigsten vertretene Fettsäure die Ölsäure ist (ca. 70 – 90 % im *High-Oleic* Sonnenblumenöl) – daher wurde mit dem kleinsten Ester der Ölsäure, dem Methyloleat, gearbeitet, wobei diese Methylester auch als Biodiesel bereits industrielle Bedeutung haben und somit attraktive Ausgangsverbindungen für dieses Projektvorhaben darstellten.

Zu Beginn der Untersuchungen stand ein genauerer Blick in die Analytik der Edukte und Produkte, die mittels GC-FID durchgeführt wurde, im Fokus. Im ersten Zeitraum der Machbarkeitsphase war über eine Hydrolyse des Ölsäuremethylesters (**3**) als Nebenreaktion diskutiert worden, dieser Aspekt wurde hier noch einmal aufgegriffen. Bereits in der Sondierungsphase konnte gezeigt werden, dass durchaus einige Fettsäurehydratasen (FAH) in der Lage sind Methyloleat zu hydratisieren, was bereits in der Literatur beschrieben worden war,[7] worauf nun aufgebaut werden sollte.

Bei der Umsetzung von Methyloleat (**3**) und Methyl-10-hydroxystearinsäure (**4**) konnte beobachtet werden, dass analog zur Literatur die Umsetzung des Methyloleats (**3**) durch die Mutante EmOHy (Q265A_T436A_N438A) besser ist als durch den Wildtyp der EmOHy (Abbildung 3); die Mutante konnte eine Verdopplung des Umsatzes auf 11% im Vergleich zum Wildtyp (5%) ermöglichen. Die Zugabe des Phasentransferkatalysators Tetraethylammoniumbromid (TEAB) zeigte keinen positiven Effekt (10%). Jedoch wurde auch die Rückreaktion verstärkt, welche durch Einsatz der Methyl-10-hydroxystearinsäure als Edukt untersucht wurde. Hier zeigte die Mutante sogar den 5-fachen Umsatz (16%) im Vergleich zum Wildtyp (3%), dessen Umsatz jedoch mit dem des Leervektors (4%) vergleichbar war. TEAB zeigte in diesem Fall erneut keine Verbesserung des Umsatzes (14%). Die Umsätze wurden jeweils mit GC-FID und einer Standardreihe bestimmt.

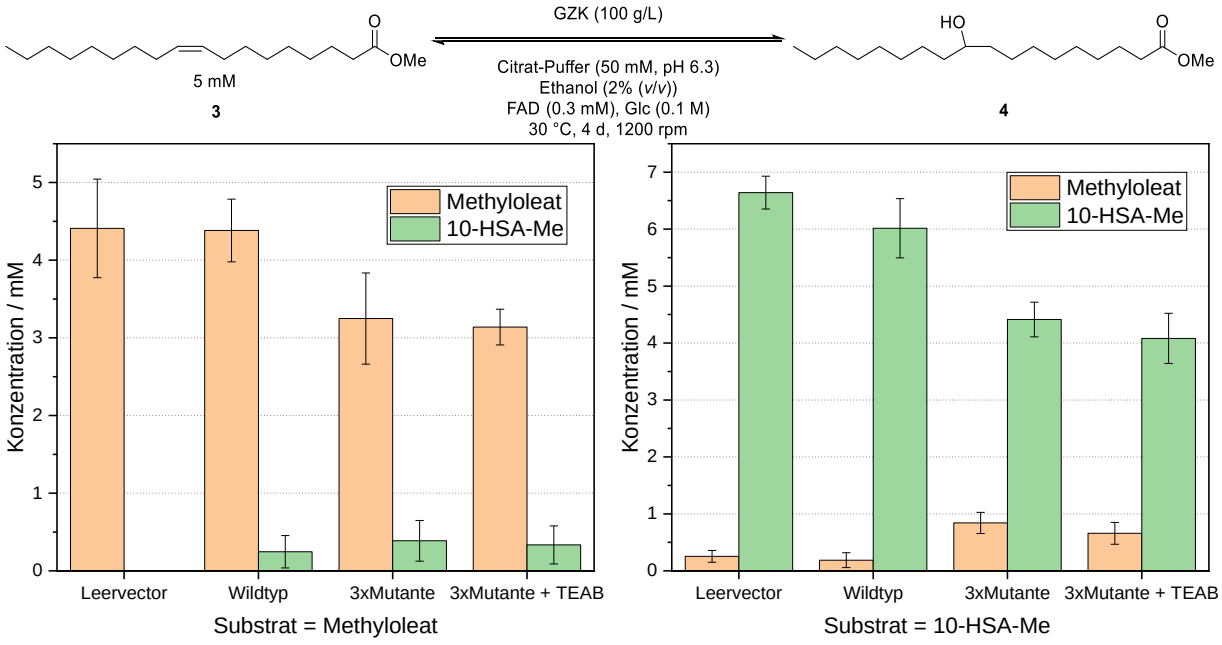
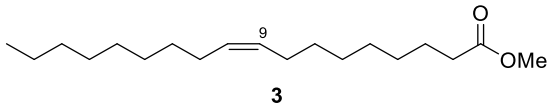
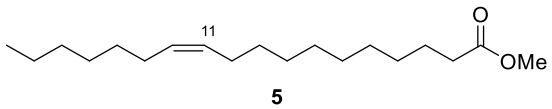


Abbildung 3. Ergebnisse der Hin- und Rückreaktion des Methyloleats (**3**) und Methyl-10-hydroxystearinsäure (**4**) unter Verwendung der EmOHy und EmOHy-Mutante (Q265A_T436A_N438A) und des Leervektors pET28a, jeweils exprimiert in *E. coli* BL21(DE3). Die Daten wurden mittels GC-FID erhoben.

Die Proben dieser Reaktion wurden auch via GC-MS untersucht. Dabei wurde bei beiden Reaktionen, mit Methyloleat (**3**) und 10-Hydroxystearinsäuremethylester (**4**), eine Bildung des 11-Octadecensäure-methylester-Isomers (**5**) beobachtet. Diese Isomerisierung scheint gegenüber der Bildung des Methyloleats oder auch 9-Octadecensäuremethylesters (**3**) leicht favorisiert zu sein (Abbildung 4), was zugleich eine Herausforderung für die Optimierung dieser Reaktion mit sich bringt, da durch die Isomerisierung die Reaktivität des Enzyms für das Substrat noch weiter sinken könnte.

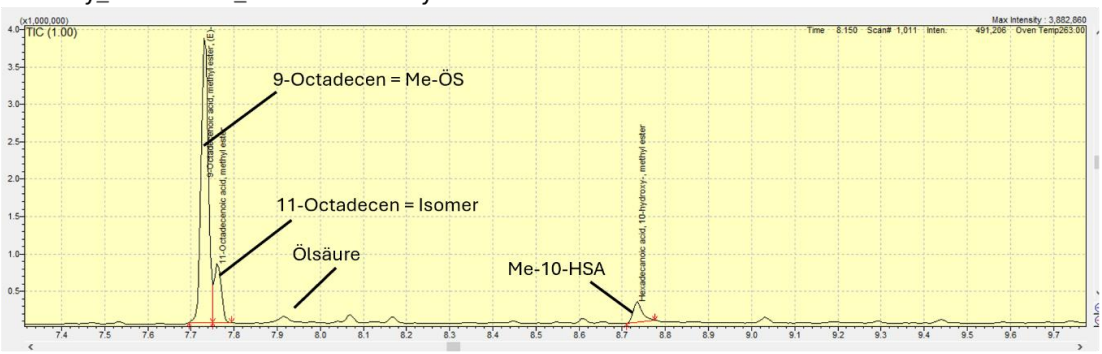


3



5

EmOHy_3xMutante_Substrat=Methyloleat



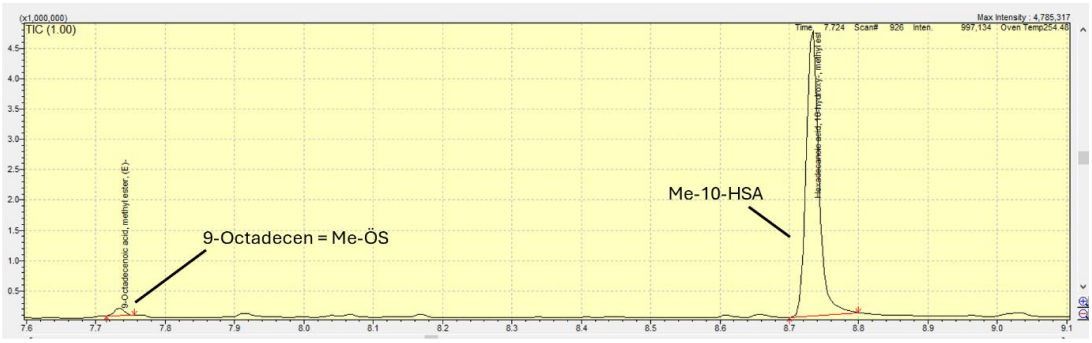
EmOHy_3xMutante_Substrat=Me-10-HSA

Abbildung 4. Strukturformeln des 11-Octadecensäuremethylester-Isomers (**5**) und des Methyloleats (**3**). Ergebnisse der Hin- und Rückreaktion des Methyloleats (3) und Methyl-10-hydroxystearinsäure (**4**) unter Verwendung der EmOHy-Mutante (Q265A_T436A_N438A) exprimiert in *E. coli* BL21(DE3). Die Daten wurden mittels GC-MS erhoben.

Dieses Phänomen wurde jedoch beim Wildtyp und Leervektor nicht mehr beobachtet (Abbildung 5). Daher ist es möglich, dass die Isomerisierung erst durch die Mutationen ermöglicht wurde. Des Weiteren wurden in den meisten Ansätzen Spuren einer als Ölsäure vermuteten Verbindung gefunden, die entweder durch eine Hydrolyse der Ester **3** bzw. **4** gebildet oder lediglich durch die Extraktion der Ganzzellkatalysatoren erhalten worden sein könnte.

EmOHy_Wildtyp_Substrat=Methyloleat

EmOHy_Wildtyp_Substrat=Me-10-HSA



Leer_Substrat=Methyloleat

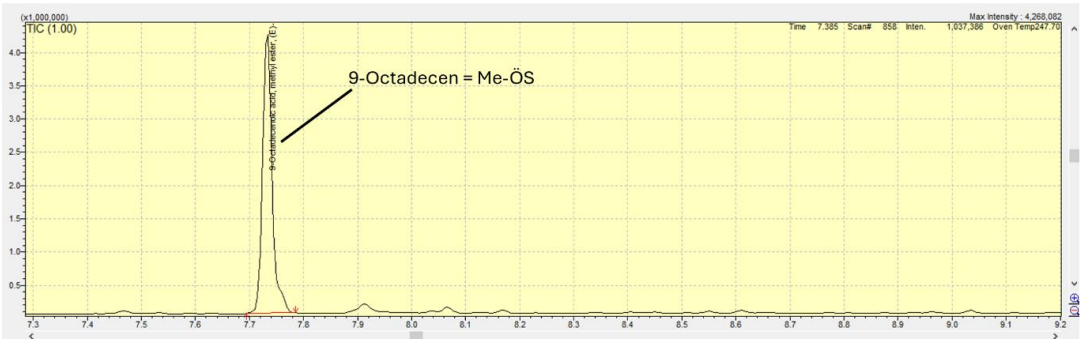
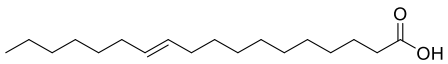


Abbildung 5. Ergebnisse der Hin- und Rückreaktion des Methyloleats (3) und Methyl-10-hydroxystearinsäure (4) unter Verwendung der EmOHy exprimiert in *E. coli* BL21(DE3). Die Daten wurden mittels GC-MS erhoben.

In Ergänzung zu den vorherigen Ergebnissen wurde die Hypothese aufgestellt, dass durch die Extraktion der Ganzzellkatalysatoren eine zur Ölsäure (**5**) isomere Verbindung (**7**), vermutlich Vaccensäure (die Ölsäure der Bakterien, siehe Magnuson[11]), analytisch erfasst wurde.



7

Sowohl Ölsäure (**5**) als auch die Fettsäure aus den Bakterien (**7**) zeigen eine Retentionszeit von 7.9 min in der Gaschromatographie. Um der Auswirkung dieser Hypothese auf die Analytik der Umsetzung von Methyloleat durch eine FAH nachzugehen, wurden verschiedene Kontroll-Experimente durchgeführt, deren Ergebnisse in Abbildung 6 dargestellt sind. Sie unterstützen die zuvor erstellte Annahme, dass während der Aufarbeitung der enzymatischen Ganzzell-Reaktionsansätze eine Fettsäure aus dem bakteriellen Organismus (Ölsäure oder Vaccensäure) mit extrahiert worden sein könnte und die Ergebnisse modifiziert haben könnte. Interessant ist zu bemerken, dass im Vergleich zu der Leervektorkontrolle mit Zugabe von Methyloleat (**3**) gleiche Konzentrationen der eluierenden

Verbindungen bei 7.9 min in dem untersuchten Ganzzellkatalysator FAH Ansätzen ohne Zugabe von Methyloleat (**3**) nachweisbar waren, hier gezeigt am Beispiel von CspFAH (Abbildung 6).

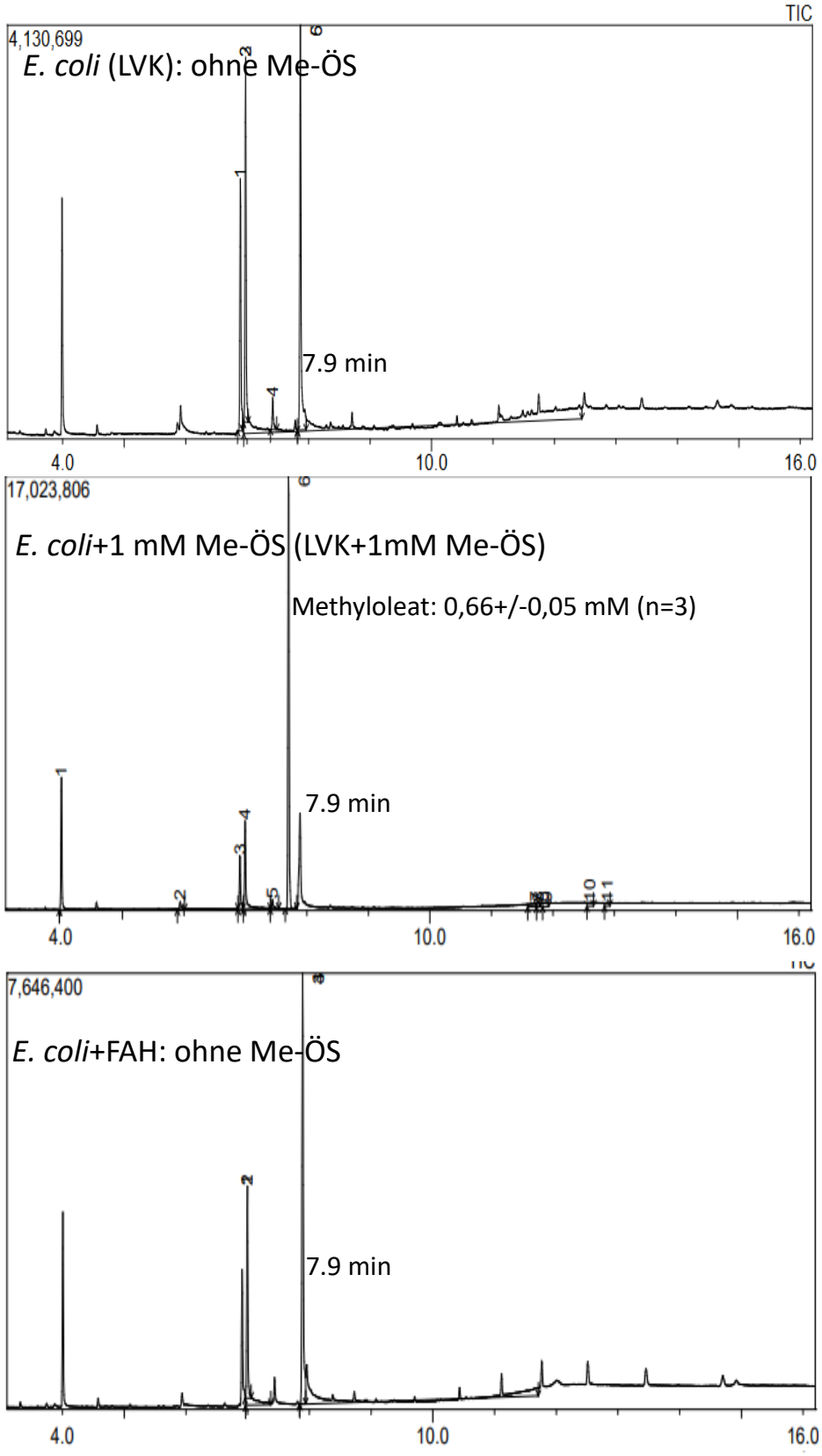


Abbildung 6. GC-MS Analyse von Inkubaten (fünf Tage, 35 °C, 850 rpm) mit FAH Lösungen, Ganzzell-Ansatz mit Leervektor (*E. coli*) (Leervektorkontrolle, LVK) ohne (ganz oben) bzw. mit (Mitte) Zugabe von 1mM Methyloleat (**3**) (LVK+ 1mM Methyloleat (**3**)), sowie Analyse der endogenen Fettsäuren im Ganzzellansatz mit exprimierter FAH, hier CspFAH ohne Zugabe von Methyloleat (**3**) (*E. coli*+FAH: kein Methyloleat (**3**) zugefügt). Die Daten wurden mittels GC-MS erhoben.

Des Weiteren zeigen Vergleiche von Ganzzell-Ansätzen mit FAH einen erhöhten Anteil der bei 7.9 min im Gaschromatographen detektierten eluierenden Verbindung (Ölsäure **5** bzw. Vaccensäure **7**), wenn Methyloleat (**3**) zu den Ganzzell-Ansätzen zugefügt worden war (Abbildung 7). Inwieweit heterogen exprimiertes FAH mit der Bakterienmembran und endogenen *E. coli* Enzymen wechselwirkt wurde im Rahmen dieses Projektes nicht untersucht, da es zu weit von der Zielsetzung entfernt war. Jedoch ist anzunehmen das Affinitäten der hier untersuchten FAHs zu Bakterienmembranlipiden bestehen (siehe auch Lathram[12]).

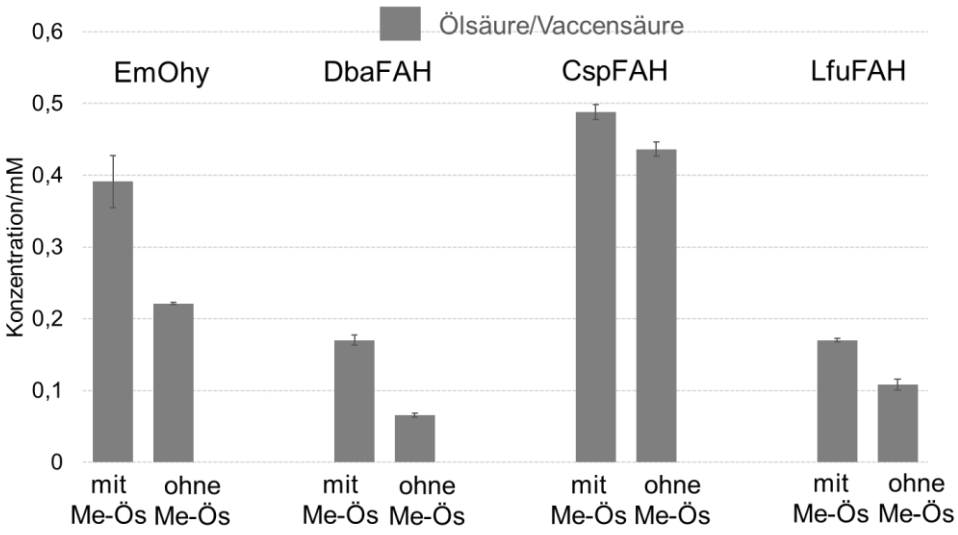


Abbildung 7. Vergleich der Ölsäure/Vaccensäure Konzentrationen von FAH-Ganzzellkatalysatoren mit Zugabe von Methyloleat (**3**) (1mM) oder ohne Zugabe von Methyloleat (**3**) (Lösemittel von (**3**), DMSO). Die Unterscheidung zwischen Ölsäure (**5**) und der Vaccensäure (**7**) konnte aufgrund ihrer identischen Retentionszeiten im Gaschromatographen von 7.9 min nicht analytisch differenziert werden. Die Balken der FAH-enthaltenden Ganzzellkatalysatoren ohne Methyloleat (**3**) Zugabe entsprechen den Vaccensäure Konzentrationen (n=2+/-SD). Die Daten wurden mittels GC-MS erhoben.

Dass Fettsäurehydratasen den Ölsäuremethylester (**3**) zum hydratisierten 10-Hydroxystearinsäure-methylester (**4**) umsetzten, wurde in vorherigen Experimenten (Sondierungsphase dieses Projektes) ergänzend zu den Beobachtungen von Engleder[7] gezeigt. Der definitive Nachweis der FAH-katalysierten Hydratisierung konnte hier nun erfolgreich mittels aufgereinigtem Protein gezeigt werden (Abbildung 8).

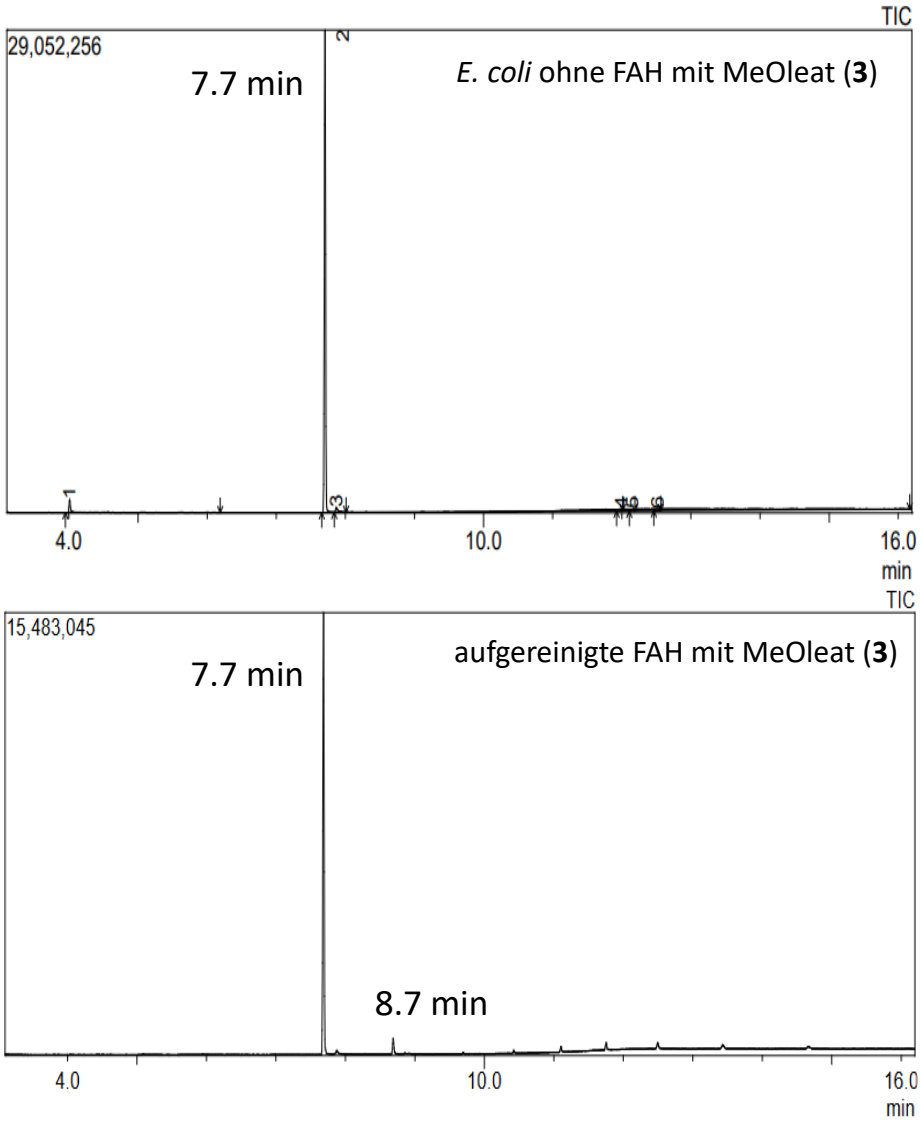


Abbildung 8. Enzymatische Umsetzung von Methyloleat (**3**) zu 10-Hydroxystearinsäuremethylester (**4**). Hierzu wurde aufgereinigte FAH (konkret das Enzym EmOHy) mit 1 mM Methyloleat (**3**), 8 mM Titan-(III)-citrat, 5 mM NADH und 5 mM FAD für 5 Tage bei 25 °C, 240 rpm unter anaeroben Bedingungen inkubiert. Die obere Graphik zeigt die Kontrollreaktion von Reagenzien mit 1 mM Methyloleat (**3**) ohne Zugabe der FAH EmOhy. Die Daten wurden mittels GC-MS erhoben.

In Anlehnung an Arbeiten zu aktivem FAH von Serra[13] wurde für die Nachweisreaktion Titan-(III)-citrat und nicht DTT als Reduktionsmittel eingesetzt (siehe auch Engleder[2]. Titan-(III)-citrat sorgt für ein negatives Redoxmilieu, ähnlich wie es im Ganzzellkatalysator vorzufinden ist[13,14] und kann wie in Abbildung 9 nachgewiesen, reduziertes FAD dem aktiven Cofaktor von FAH generieren. Die Bildung von reduziertem FAD im Puffermilieu scheint durch DTT nicht begünstigt zu sein, wie der Vergleich in Abbildung 9 unter den hier gewählten Bedingungen zeigt.

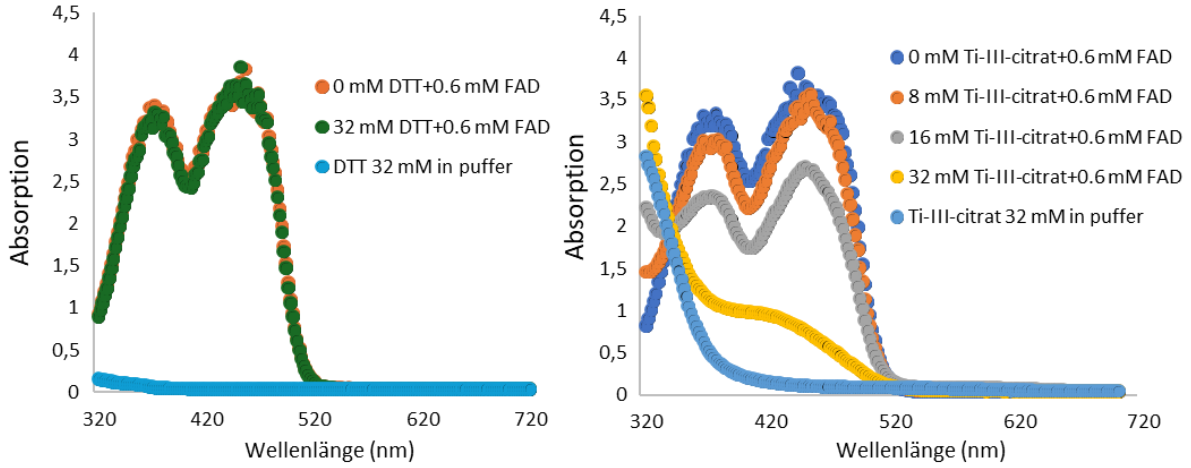


Abbildung 9. Absorptionsspektren von FAD (0.6 mM) inkubiert mit zwei unterschiedlichen Reduktionsmitteln, Titan-III-citrat und DTT. Die Inkubationen erfolgten mit Argon-entgasten anaerob hergestellten Lösungen unter aeroben Bedingungen, die Synthese von Titan-III-citrat erfolgte nach Zehnder und Wuhrmann[14].

Durch den Nachweis der Hydratisierung mittels aufgereinigtem Protein scheint die Vermutung einer durch Lipase generierten Ölsäure (**5**) aus Methyloleat (**3**) mit anschließender Hydratisierung und erneuter Methylierung zwar nicht ausgeschlossen zu seien, jedoch eher unwahrscheinlich. In einem ähnlichen Arbeitsansatz kamen Engleder et al.[7] zu der gleichen Aussage.

b-II) Screening der Enzym-Bibliothek mit Fettsäurehydratasen FAH

In der Sondierungsphase waren bereits erste sechs Fettsäurehydratasen auf ihre Fähigkeit untersucht worden, Triglyceride zu hydratisieren. Da diese Substrate sterisch sehr anspruchsvoll sind, wurde für weitere Untersuchungen in Anlehnung zur in Abschnitt b-I) erarbeiteten Analytik zunächst untersucht, inwieweit eine Bibliothek von mehr als 20 Fettsäurehydratasen das sterisch kleinere Methyloleat, also den kleinsten Ester der Fettsäure Ölsäure, hydratisieren können und damit als Baustein für Polymere funktionalisieren können. Die hier untersuchten Enzyme wurden bereits in Tabelle 1 aufgelistet.
Da anaerobe Bedingungen für die Aktivität von FAH gegenüber Methyloleat förderlich sind und anaerobe Bedingungen eher im Ganzzell-Katalysator als bei aus dem Zellverband durch Zellaufschluss herausgelösten Enzymen (Zellrohextrakt) vorliegt (siehe auch Serra[13]), wurden die FAHs in Form von Ganzzell-Katalysatoren (GZK) für weitere Studien eingesetzt. Der Einsatz von FAH Katalysator in Form von GZK wird auch in Schmid et al.[9], Demming et al.[4], Engleder et al.[7] und Serra et al.[13] favorisiert. Wie das Balkendiagramm zeigt, konnten bei 7 FAHs Umsätze von bis zu 20% und mehr erzielt werden. Interessanterweise waren die Umsätze besser als die am Anfang vorgestellte EmOHy Mutante, was möglicherweise auf den Ansatz, die katalytische Optimierung eines Wildtyps durch Mutagenese zu FAHs mit besserer Substrat Erkennung und Umsetzung, wie die hier gezeigten LaLHY, LaOhy, CglFAH, Hfiff FAH, LfuFAH, CteFAH sowie LamFAH beruht.

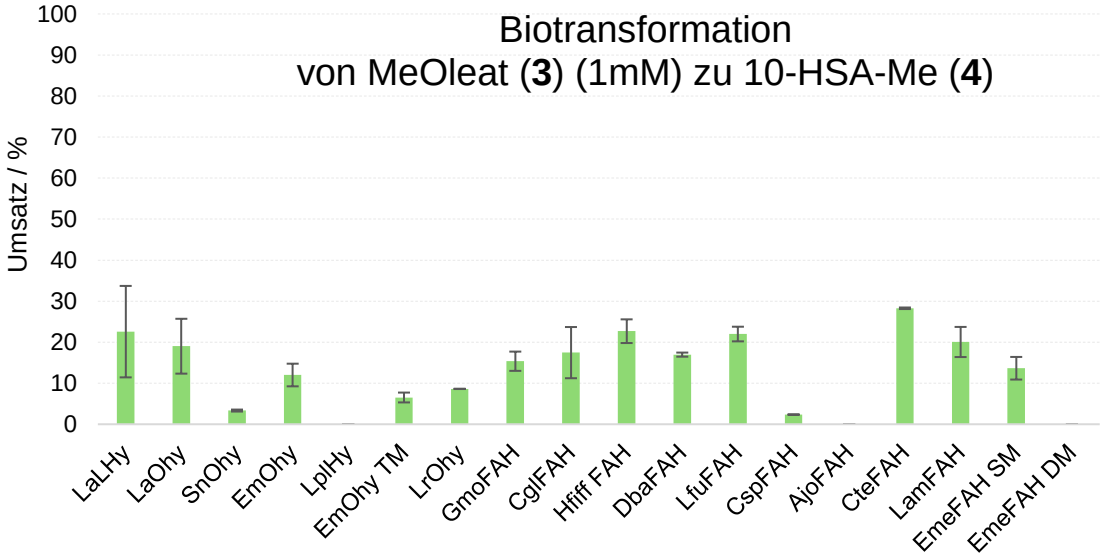


Abbildung 10. Umsätze von Methyloleat (**3**) zu Methyl-10-Hydroxysterinsäure (**4**) mit FAH-enthaltenden Ganzzell-Katalysatoren (1 mM) nach fünf Tagen Inkubationszeit (850 rpm, 35 °C). LaLHy und SnOhy (zwei biologische replikate jedes n=1 und n=2), LaOhy:3xbiologische Replikate, jedes n=2, LplHy, EmOHy TM, CglFAH, HfiffFAH, LamFAH: 2xbiologische Replikate, jedes n=2, andere n =2. Mittelwerte +/-SD. Die Daten wurden mittels GC-MS auf Grundlage von Kalibrierkurven von Methyloleat (**3**) und 10-HSA-Me (**4**) ermittelt.

Bei ausgewählten FAHs wurde durch Erhöhung der Substrat-Beladung auf 6 mM nur eine geringe Aktivitätseinschränkung beobachtet (Abbildung 11). Eine weitere Erhöhung der Umsatzrate mit Steigung der Substratkonzentration (12 mM) war nicht zu beobachten. Die Analytik wurde mittels GC-MS durchgeführt, wobei die Quantifizierung auf Kalibrierreihen mit Methyloleat (**3**) und 10-hydroxystearinsäuremethylester (**4**) beruhten.

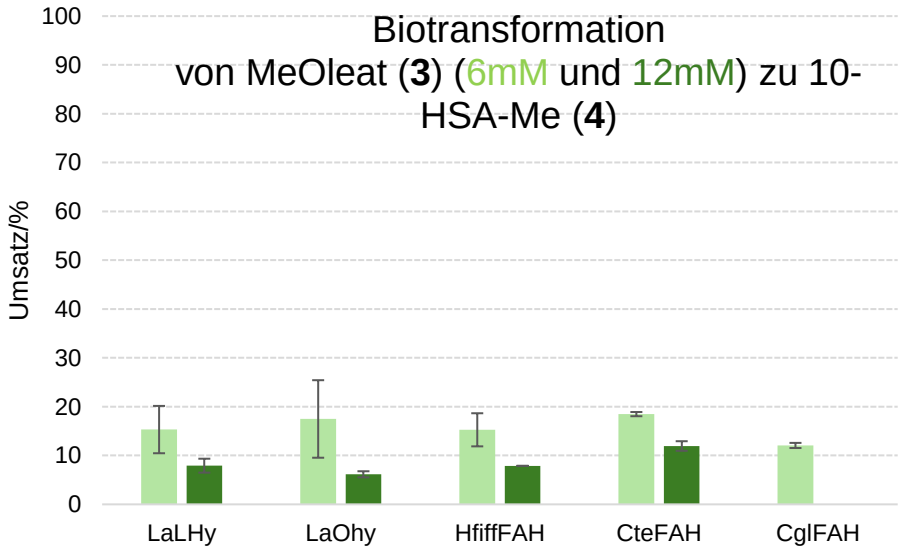
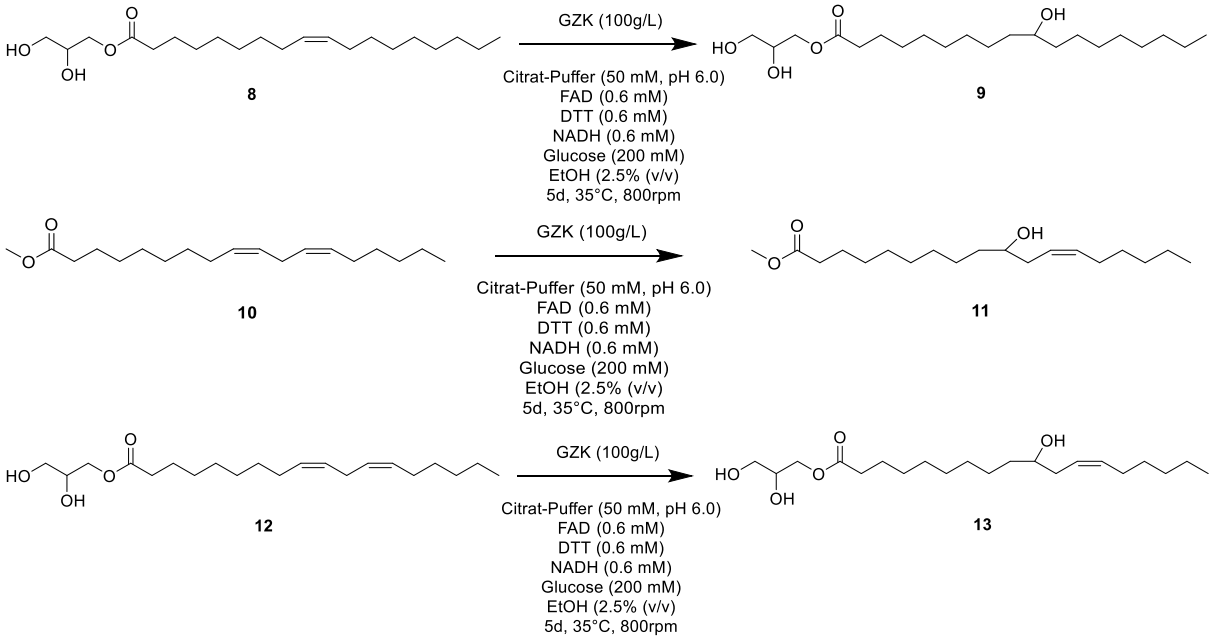


Abbildung 11. Hellgrün: Umsätze von Methyloleat (**3**) (6 mM) zu 10-HSA-Me (**4**) mit Ganzzell-Katalysatoren enthaltend FAH nach fünf Tagen (850 rpm, 35 °C). LaLHy, LaOHy and Hfiff (zwei biologische Replikate, jedes n=2) weitere n =2. Mittelwerte +/-SD. Die Daten wurden mittels GC-MS Auf Grundlage von Kalibrierkurven von Methyloleat (**3**) und 10-HSA-Me (**4**) ermittelt. Dunkelgrün: wie hellgrün mit erhöhter Methyloleat (**3**)-Konzentration (12 mM) nach fünf Tagen (850 rpm, 35 °C). (mean +/-SD, n=2)

Aus den gewonnenen Erkenntnissen wurde eine Erhöhung des Reaktionsvolumen von 1 mL auf 50 mL mit 4.8 mM Substratkonzentration zur Entwicklung hingehend zu einer präparativen Produktisolation über Säulenchromatographie angestrebt. Insgesamt wurden 3 mg 10-Hydroxystearinsäuremethylester (**4**), das nahezu identisch mit dem ^{1}H-NMR Literaturspektrum von 10-HSA-Me (**4**) ist, aus 71 mg Methyloleat (**3**) mithilfe von LaOhy Ganzzellkatalysator isoliert. Die Identität wurde ebenfalls über GC-MS nachgewiesen.

Die bisherigen Screenings wurden mit Methyl-Oleat als kleinstem Ester der Ölsäure durchgeführt, um einen ersten Schritt in Richtung Umsetzung größerer Ester mit Fettsäurehydratasen zu etablieren. Nachdem nun einige FAH gefunden werden konnten, die diese Umsetzung des Methyl-Oleats durchführen, sollten nun größere Ester der Ölsäure und Ester weiterer Fettsäuren untersucht werden. Hierfür wurde das Monoglycerid der Ölsäure synthetisiert (Verbindung **8**), die zu Verbindung **9** hydroxyliert werden kann, zudem der Methlyester von Linolsäure (Verbindung **10**), der zu Verbindung **11** hydroxyliert werden würde sowie auch von der Linolsäure das Monoglycerid (Verbindung **12**), das zu Verbindung **13** hydroxyliert werden würde (Abbildung 12).



Mögliche Me-LS hydroxyverbindungen (11) und MLN hydroxyverbindungen (13)

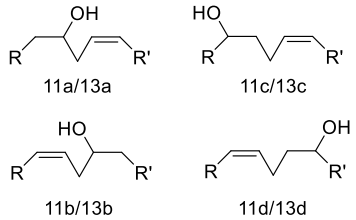


Abbildung 12. Screening der Hydratasen in Form von Ganzzellkatalysator (GZK) gegen Ölsäuremonoglycerid (**8**), Methyl-Ester der Linolsäure (**10**) sowie Linolsäuremonoglycerid (**12**) unter den abgebildeten Bedingungen. Nur jeweils ein regioisomeres Hydratationsprodukt von mehreren möglichen Hydratationsprodukten werden gezeigt (**11**, **13**).

Im Gegensatz zu Vorarbeiten aus der Sondierungsphase wurde aufgrund der besseren Stabilität und Reaktionsbedingungen hier mit Ganzzellkatalysatoren gearbeitet. Wie die Übersichtstabelle (Tabelle 2) zu den untersuchten FAHs darstellt, konnte gezeigt werden, dass das Monoglycerid der Ölsäure (Monoolein, **8**, MN) sowie der Linolsäureester des Methanols (**10**, Me-LS) und Monolinolein (**12**, MLN) Substrate von Methyloleat-affinen FAHs wie LaOHy sind. In Kontrollreaktionen wurden keine Hydratisierungsprodukte detektiert, was für eine biochemisch-selektive Hydratisierung und somit spezifischen Umsetzung von Fettsäureestern durch FAHs spricht. Literaturrecherchen[1,5,9,15] ergaben, dass diese qualitativen Daten ein bisher unentdecktes Aktivitätspotential von FAH zeigen.

Tabelle 2. Qualitative Analyse zur Hydratisierung von Mono-und Triglyceriden der Ölsäure (MN, TON), monoglycerid der Linolsäure (MLN) sowie der Methylester von Linolsäure (Me-LS) durch ausgewählter Hydratasen in Form von Ganzzellkatalysatoren (6 mM Substrat, 100 mg mL^{-1} Ganzzellkatalysator in 50 mM Citrat-Puffer (pH 6.0), 0.6 mM FAD, 0.6 mM DTT, 0.6 mM NADH, 200 mM Glucose, mit 2.5 % EtOH).

GZK Ansätze	MON hydratisiert $M+Na^+$: m/z:397.29245	TON hydratisiert $M+Na^+$: m/z:925.78	Me-LS hydratisiert $M+Na^+$: m/z: 335.25567	MLN hydratisiert $M+Na^+$: m/z:395.2768
LaLHy +MON +TON +Me-LS +MLN	POSITIV (397.2918±1.64 ppm)	NEGATIV	POSITIV (335.2564±2.18 ppm)	POSITIV (395.2762±1.52 ppm)
LaOhy +MON +TON +Me-LS +MLN	POSITIV (397.2918±1.64 ppm)	NEGATIV	POSITIV (335.2564±2.18 ppm)	POSITIV (395.2758±2.53 ppm)
HfiffFAH +MON+Me-LS	POSITIV (397.2921±0.88 ppm)	nicht untersucht	NEGATIV	nicht untersucht
CteFAH +MON +TON +Me-LS	POSITIV (397.2924±0.88 ppm)	NEGATIV	POSITIV (335.2560±0.98 ppm)	nicht untersucht
CglFAH +Me-LS	nicht untersucht	nicht untersucht	POSITIV (335.2556±0.21 ppm)	nicht untersucht
DbaFAH +Me-LS	nicht untersucht	nicht untersucht	POSITIV (335.2559±0.69 ppm)	nicht untersucht
LamFAH +Me-LS +MLN	nicht untersucht	nicht untersucht	POSITIV (335.2558±0.39 ppm)	POSITIV (395.2764±1.01 ppm)
EmOhy +Me-LS +MLN	nicht untersucht	nicht untersucht	POSITIV (335.2559±0.69 ppm)	POSITIV (395.2761±1.77 ppm)

Die präparative Isolierung von hydratisiertem Linolsäuremethylester wurde mit dem LaLhy Ganzzellkatalysator durchgeführt, wobei die Bedingungen identisch zu denen in Abbildung 12 gezeigten waren. Hierbei konnten 9 mg aus 71 mg Edukt (**10**) gewonnen werden, wobei die Anwesenheit von Oxidationsprodukten nicht auszuschließen sind.
Im Einklang mit Computer-gestützten Analysen konnten jedoch keine FAH katalysierten Hydratationsprodukte von Triglyceriden detektiert werden (gezeigt für EmOhy, siehe Abbildung 13).

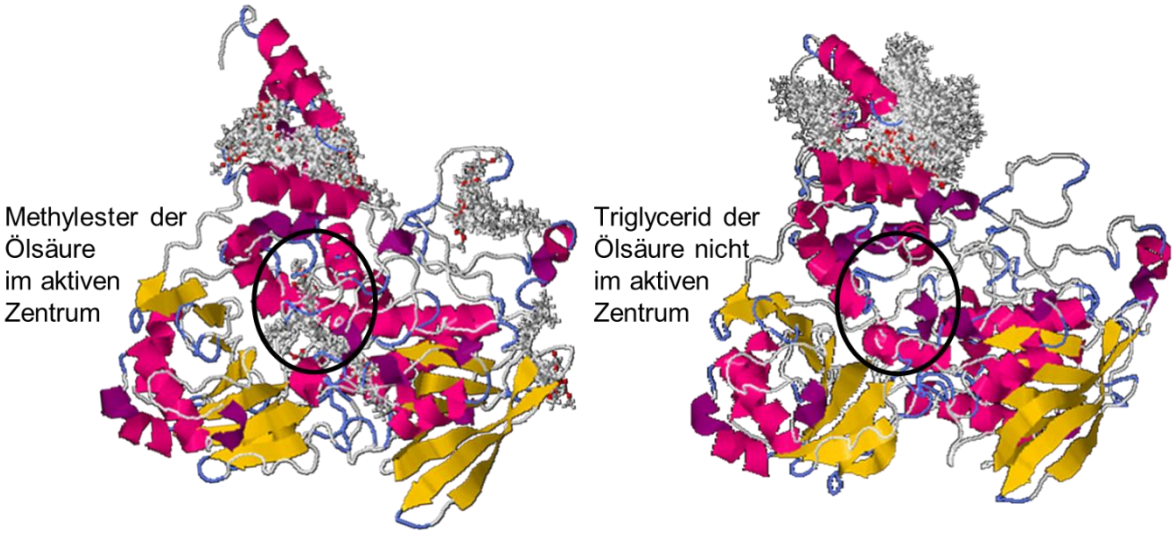


Abbildung 13. Computergestützte Analyse der Interaktion von Fettsäurehydratase mit Methyloleat und Ölsäuretriglycerid. Gezeigt an der Methyloleat-affinen FAH, EmOhy wird Methyloleat das in der Mitte des Enzyms befindende aktive Zentrum gebunden, wobei das sperrige Triglycerid der Ölsäure nicht in das aktive Zentrum gelangen kann; alle Ergebnisse als Überlagerung gezeigt. In Übereinstimmung mit den *in silico* Untersuchungen, durchgeführt mit dem öffentlich verfügbaren (CC-BY 4.0 Creative Commons 4.0 International License) SwissDock Programm konnten keine der im Labor untersuchten FAHs ein Biopolyol aus Triolein mithilfe ihres aktiven Zentrums herstellen. Die Visualisierung erfolgte mittels der freien Software (GNU Lesser General Public License) von Jsmol. Die hierfür eingesetzten Strukturen basieren auf den EmOHy ((P)rotein (D)aten (B)ank Eintrag 4uir, sowie den entsprechenden ZINC Databank (ebenfalls Öffentlich zugänglich) Einträgen zu Methyloleat (**3**) und dem Triglycerid der Ölsäure.

b-III) Zusammenfassende Bewertung des Prozesskonzeptes (A) zur Hydratisierung von Fettsäure-Estern mittels Enzymen

Zu Beginn diese Forschungsvorhabens wurden zwei parallele Konzepte zur Synthese Hydroxy-funktionalisierter biobasierter Produkte entwickelt, von denen eines auf einer enzymatischen Route basierte und die Hydratisierung von Fettsäureestern umfasste. Dies sollte mittels Fettsäurehydratasen (FAH) realisiert werden, einer Enzymklasse, die für die Hydratisierung freier Fettsäuren und in geringem Rahmen auch von deren Estern beschrieben wurde. Es stellte sich im Rahmen dieses Forschungsvorhabens heraus, dass die Umsetzung von Estern mit FAH sehr anspruchsvoll ist. Kleine Ester wie Methyl-Ester von Ölsäure oder Linolsäure (die interessanterweise als Biodiesel bereits kommerzielle Bedeutung haben) konnten im Rahmen dieses Projektes erfolgreich gezeigt werden. Bei größeren Estern geraten die hier untersuchten FAH aber an ihre Grenzen. Insgesamt wurde eine Enzym-Bibliothek von 24 FAH aus diversen Wildtyp-Stämmen, teils optimierte Mutanten, untersucht.
In frühen Arbeiten zu FAH war zunächst ausgeschlossen worden, dass FAH überhaupt Ester der Fettsäuren umsetzen würden, sondern dass die freie Carboxylgruppe für den katalytischen Vorgang nötig sei[16]. Engleder et al [7] widerlegten dies und wiesen nach, dass in bestimmten FAH, insbesondere in mutagenisierten Varianten, die enzymatische Hydratisierung von Methyl-Ölsäure durch das Enzym EmOhy gelang. In der hier vorliegenden Untersuchung konnten die Beobachtungen von Engleder[7] zur intrinsischen Aktivität von FAH bestätigt und erweitert werden. Nicht nur der Methylester der Ölsäure sondern auch der Methylester der Linolsäure können durch FAH in Form von Ganzzellkatalysatoren zu hydratisierten Fettsäureestern umgesetzt werden. Des Weiteren wurde gezeigt, dass einzelne FAHs, wie LaOhy und LaLHy ein Potential zur Umsetzung des Monoglyceridesters der Ölsäure und Linolsäure

besitzen. Sterisch noch anspruchsvollere Ester wie Triglyceride der Fettsäuren konnten aber nicht umgesetzt werden.
Somit stellt diese Arbeit einen wichtigen Beitrag zur Grundlagen-Forschung dar. Da jedoch nur geringe Umsätze erzielt werden konnten, ist das industrielle Potential der FAH als Katalysator für die Hydroxylierung von Fettsäureestern aus heimischen Pflanzenölen vom Stand der Wissenschaft aus als eher gering einzustufen. Der Fokus wurde daher auf die Arbeiten an Prozesskonzept B gelegt, dessen Ergebnisse in der Folge dargestellt werden.

c) Prozesskonzept B: Hydroxymethylierung von Pflanzenölen durch kombinierte Hydrierung und Hydroformylierung

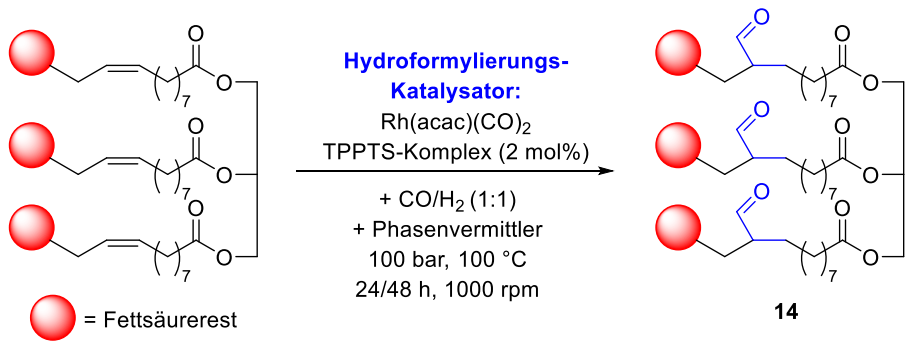
Neben der Einführung der zur Polyurethan-Bodenbelag-Bildung benötigten Hydroxy-Gruppen (OH-Gruppen) über die enzymatische Hydratisierung (Prozesskonzept (A), siehe Abbildung 2) wurde parallel in enger Abstimmung mit dem Wirtschaftsexperten und seinem Forschungsteam bei der Firma Windmöller ein zweites, obig beschriebenes Konzept verfolgt, in dem die Einführung von OH-Gruppen in heimische Pflanzenöle über eine „CH_2-Brücke“ erarbeitet wird (Prozesskonzept (B)). Hierbei erfolgt die Umsetzung des Ausgangsstoffes über eine Kombination bestehend aus einleitender Hydroformylierung und nachfolgender Hydrierung. Beide Katalyse-Technologien stellen heute im Millionen-Tonnenmaßstab industriell angewandte Reaktionen dar und sind somit hochattraktiv für eine kostengünstige Produktion der Zielprodukte. Zudem steht im Arbeitskreis IOCB der Universität Bielefeld neben den Biotechnologie-Labors ein Hochdruck-Pilottechnikum für genau diese Prozesstechnologien Hydroformylierung und Hydrierung zur Verfügung.
Die ersten Versuche mit dem heimischen Pflanzenöl verliefen sehr erfolgreich und führten bereits nach kurzer Zeit im ersten Teilabschnitt des Projektes zur Herstellung von Produktmustern vom BioPolyol-Typ **2b**, die dann beim Unternehmen des Wirtschaftsexperten evaluiert werden konnten. Für den Schritt der Hydroformylierung kam hierbei zunächst ein Rhodium-Phosphan-Katalysator und Synthesegas zum Einsatz, hierbei konnte ein Umsatz von >90 % erzielt werden. Die Hydrierung erfolgte mit einem heterogenen Metall-Katalysator und lieferte das gewünschte Produkt mit einer hervorragenden OH-Gruppenzahl von ca. 2.7. Hiervon konnten in der Folge größere Muster hergestellt werden, mit denen Anwendungstests beim Wirtschaftsexperten durchgeführt werden konnten. Ein wichtiger Aspekt der nachfolgenden Arbeiten war die Prozessoptimierung der Hydroformylierung. Hintergrund hierbei war der hohe Katalysatorpreis (mit zeitweise >1 Million $/Kg Rhodium in 2021), der eine Limitierung für technische Anwendungen darstellen kann. Entsprechend kam dem Erzielen einer hohen „*total turnover number*“ (TTN) sowie einem effizienten Katalysator-Recycling besondere Bedeutung zu, um eine Anwendung in diesem „*high volume – low price*“-Segment zukünftig realisieren zu können.

c-I) Optimierung der Hydroformylierung mit Hilfe von Phasenvermittlern

Für die Prozessoptimierung und weitere Untersuchungen des wässrig-organischen Zwei-Phasen-Systems wurden inzwischen im Rahmen der Machbarkeitsphase diverse Phasenvermittler untersucht (Tabelle 3). Hierbei war weniger der absolute Umsatz von Interesse, sondern im Hinblick auf einen Erkenntnisgewinn zu den „Parameter-Wirkungs-Beziehungen“ der Vergleich der unterschiedlichen Phasenvermittler, unterschiedlicher Reaktionsbedingungen und unterschiedlicher Liganden für die Rh-Katalyse.
Die Rolle von Phasenvermittlern erscheint eine wirkungsvolle und auch für technische Anwendungen interessante Option zur Verbesserung des Massentransfers und damit der Hydroformylierung von Substraten mit niedriger Wasserlöslichkeit (wie die von uns verwendeten Pflanzenöle) im wässrigen

Reaktionsmedium. Das wässrige Reaktionsmedium wiederum erlaubt die „Immobilisierung“ der Rh-Katalysatorkomponente durch geeignete wasserlösliche Liganden wie TPPTS. Dadurch sollte eine einfache und elegante Abtrennung der teuren Rh-Komponente nach der Reaktion dann durch Phasentrennung von der das hydroformylierte und hydrierte Pflanzenöl-Produkt enthaltenden organischen Phase ermöglicht werden. Verschiedene Typen an kommerziell verfügbaren Phasenvermittlern wurden untersucht (Tabelle 3, Ansätze 1-4). Hierbei erwies sich Triton X-100 (15 w%) als sehr geeignet und zum höchsten Umsatz in dieser Versuchsreihe mit 42 % führend, wobei auch die auf nachwachsenden Rohstoffen basierende Verbindung TPGS-750 ein interessantes Ergebnis zeigte: Zwar ist der Umsatz mit 19 % deutlich niedriger, allerdings kam hierbei auch deutlich weniger Menge an Phasenvermittler mit lediglich 3 m% zum Einsatz.
Der nächste untersuchte Reaktionsparameter stellte dabei die Konzentration des Phasenvermittlers (durchgeführt am Beispiel von Triton X-100) dar. Bei der Verwendung des Phasenvermittlers Triton X-100 konnte ein durchaus im ähnlichen Bereich (32 % versus 42 %) liegender Umsatz auch bei deutlich niedriger Konzentration des Phasenvermittlers von 1.5 w% (im Vergleich zu 15 w%) erzielt werden (Tabelle 3, Ansätze 4 und 6), was gerade im Hinblick auf eine technische Lösung einen deutlichen Vorteil darstellt (auch mit Blick auf die spätere Produktreinigung). Ebenfalls vielversprechend ist die grundsätzliche kontinuierliche Erhöhung des Umsatzes durch Verlängerung der Reaktionszeit von 24 h auf 48 h (Tabelle 3, Ansätze 4 und 5). Ein problematischer Abbruch der Reaktion wurde innerhalb des betrachteten Reaktionszeitraums von 48 h nicht festgestellt.

Tabelle 3: Hydroformylierung von Ölsäure-reichem Sonnenblumenöl zur Herstellung der Aldehyd-Zwischenstufe 7 für BioPolyole vom Typ 2b unter Verwendung von verschiedener Phasenvermittler und Liganden. (TPGS-750 = DL-alpha-Tocopherol-methoxypolyethylenglycol).



(oder entsprechende Regioisomere mit OH-Substitutent in 9-Position)

Ansatz	Zeit / h	Ligand	Phasenvermittler	Umsatz / %
1	24	TPPTS	TPGS-750 (3 w%)	19
2	24	TPPTS	Natriumlaurylsulfat (SDS) (15 w%)	17
3	24	TPPTS	Methyl-β-cyclodextrin (38 w%)	18
4	24	TPPTS	Triton X-100 (15 w%)	42
5	48	TPPTS	Triton X-100 (15 w%)	60
6	24	TPPTS	Triton X-100 (1.5 w%)	32
7	24	SPHOS	Triton X-100 (15 w%)	79
8	24	SPHOS	Triton X-100 (15 w%)	63 (neat)

Darüber hinaus wurde in der Machbarkeitsphase auch der Einfluss des Liganden in Kombination mit einem Phasenvermittler untersucht (Tabelle 3, Einträge 4 und 7). So zeigte sich der Einfluss des Liganden in Gegenwart von Triton X-100 als sich erheblich auf den Umsatz auswirkend und der Einsatz

von SPHOS ergab mit 79 % einen deutlich höheren Umsatz als TPPTS (42 % Umsatz). Für dieses Ergebnis konnte auch eine Erklärung gefunden werden: So scheinen sich die mit dem hydrophoben SPHOS gebildeten Rh-Katalysatorkomplexe in den organischen Kompartimenten der mit dem Phasenvermittlern gebildeten Micellen zu lösen, einhergehend mit einer guten Umsetzung der in diesen organischen Innenräumen der Micellen ebenfalls gut löslichen Pflanzenöle als Substrate. Auch unter Solvens-freien Bedingungen („*neat conditions*“) verlief diese Reaktion erfolgreich mit etwas vermindertem Umsatz von 63 % (Tabelle 3, Ansatz 8).

c-II) Verwendung von Temperatur-abhängigem Multi-Komponenten Lösungsmittel (TMS)

Um die Durchmischung im Zwei-Phasen-System zu optimieren, wurden Temperatur-abhängige Multi-Komponenten Lösungsmittel (TMS) getestet.[17] Diese sind bei Raumtemperatur (bzw. - 20 °C) zweiphasig und werden bei erhöhten Temperaturen einphasig. Da die Reaktionstemperatur der Hydroformylierung wie auch bei der Hydrierung stark erhöht ist (80 - 110 °C), wäre dieses Prinzip vielversprechend. Jedoch konnte in den bisherigen einleitenden Versuchen bei allen verwendeten Lösungsmittelgemischen (1:1 (*v*/*v*)) aus Wasser und 1-Hexanol, Cyclohexanol und *iso*-Propanol bei 80 °C keine Ausbildung eines einphasigen, bzw. bei Glycerin und *tert*-Butanol bei -20 °C keine Ausbildung eines zwei-Phasen-System beobachtet werden. Daher wurde die Verwendung des „TMS-Konzepts“ im Rahmen des Projektes nicht weiterverfolgt.

c-III) Darstellung der BioPolyole vom Typ 2b in einer Kaskade ohne Katalysatorwechsel

Hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit der Route wird es einerseits wichtig sein, den insbesondere teuren Rh-Katalysator des Schritts der Hydroformylierung zurückzugewinnen und wiederverwenden zu können, daneben handelt es sich auch beim Schritt der Aufarbeitung zwischen der Hydroformylierung und der Hydrierung um einen unwirtschaftlichen Schritt (da die Isolierung dieser Zwischenstufe „*per Definition*“) nicht benötigt wird. Daher wurde überprüft, ob der Rhodium-Katalysator im einphasigen Reaktionsansatz neben der Hydroformylierung ebenfalls die Hydrierung in einem Ein-Topf-Prozess katalysieren kann. Solche Kaskadenreaktionen unter Verknüpfung mehrerer Reaktionen sind derzeit ein Forschungsgebiet von hoher Aktualität. Eine Schlüsselvoraussetzung zur Realisierung solcher Verfahren, welches zugleich eine große Herausforderung darstellt, ist das Erreichen der Kompatibilität beider Reaktionsschritte und der dabei involvierten Komponenten. Ein solches Zweistufenkonzept unter Nutzung unterschiedlicher Reaktionstemperaturbereiche wurde vor kurzem in der Literatur für die Hydroformylierung und Hydrierung von Pflanzenölen berichtet.[18]
In unseren einleitenden Versuchen zu einem solchen Zweistufen-Eintopf-Synthesekonzept konnte die Hydroformylierung zum Aldehyd **14**, wie gewohnt, mit sehr guten Umsätzen erfolgen. Nach Umspülen auf Hydrierungsbedingungen konnte jedoch bislang bei den gewählten Reaktionsbedingungen noch kein Umsatz zum gewünschten Alkohol beobachtet werden (Abbildung 14). In den nächsten Folgearbeiten sollen zunächst die individuellen Reaktionsschritte, insbesondere die Hydrierung, optimiert und anschließend die optimierten Reaktionsschritte dann kombiniert werden.

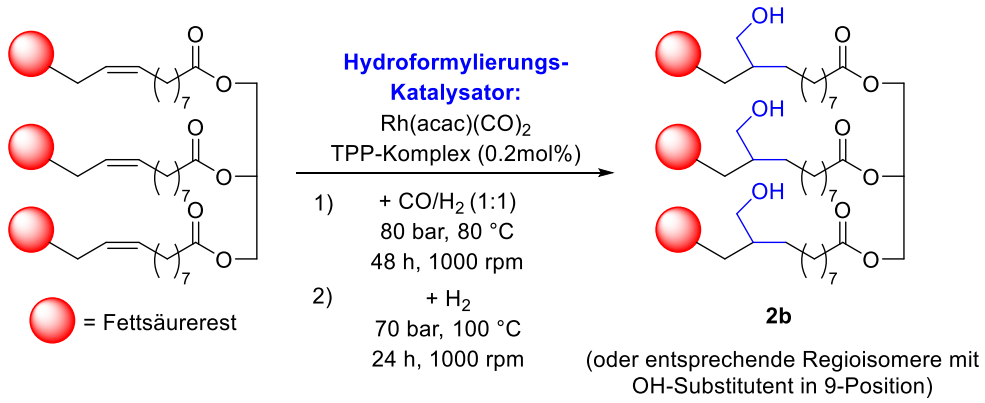


Abbildung 14: Hydroformylierung mit anschließender Hydrierung von Ölsäure-reichem Sonnenblumenöl zur Herstellung des Bio-Polyols vom Typ **2b**. Diese Reaktion lieferte bisher einen sehr guten Umsatz nach der ersten Stufe, aber keinen Umsatz nach der zweiten Stufe.

Die Optimierung der Syntheseroute durch Phasenvermittler konnte jedoch als nur bedingt geeignet eingestuft werden, da zwar ein sehr hoher Umsatz erzielt werden konnte, das System aber nicht in ein Zwei-Phasen-System versetzt werden konnte und somit das Thema der Aufarbeitung bislang nicht gelöst ist. Der Fokus der Arbeiten im zweiten Teil des Projektes lagen daher in der Heterogenisierung des Katalysators.

c-IV) Heterogenisierung der Rh-Katalysatoren und Wiederverwendung nach Abtrennung durch Filtration

Da sich die Verwendung des Zwei-Phasen-Systems durch zwingenden Einsatz eines Phasenvermittlers problematisch gestaltete, sollte als weiterer Ansatz die Heterogenisierung der Rh-Katalysatoren untersucht werden. Ein heterogener Katalysator hätte den Vorteil, dass sich der Katalysator einfacher abtrennen ließe und dieser somit leichter wiederverwendet werden kann. Nachteilhaft wäre jedoch, wenn durch die Heterogenisierungsmethode ein reduzierter Massentransfer auftreten würde, was es zu untersuchen gilt.
Methoden zur Heterogenisierung von Katalysatoren sind in der Literatur vielfach beschrieben und reichen vom Einschließen in ein Polymer über Adsorption an einer Oberfläche bis hin zum Einschließen in Mizellen. Im Rahmen dieses Projektes sollen zunächst fünf unterschiedliche Ansätze untersucht werden. Bei diesen fünf Ansätzen handelt es sich um:

a) Das Einschließen des Rhodium-Komplexes in eine Cellulose-Acetat-Folie, wahlweise die Verwendung von anderen Polymersystemen für die Folie (Feldmann *et al.*)[19]
b) Die Verwendung eines Metallschwammes zur Aufnahme von Rhodium
c) Die Synthese eines porösen organischen Liganden, der Rhodium komplexiert (Gorbunov *et al.*)[20]
d) Die Synthese eines 3V-PPh_3-Netzwerkes, das ebenfalls Rhodium komplexieren soll (Sun *et al.*)[21]
e) Die Verwendung der „Supported ionic liquid phase“ (SILP)-Technologie (Wasserscheid *et al.*) [22]

c-IVa) Einschließen des Rhodium-Komplexes in eine Cellulose-Acetat-Folie

Feldman *et al.* beschreiben die Verwendung von CA-Folien als Trägermaterial für Rhodium zur Hydroformylierung von Ethylen und Propylen.[Fehler! Textmarke nicht definiert.] Aufgrund der vielversprechenden E rgebnisse aus der Literatur sollte dieses System hier nun auf Sonnenblumenöl übertragen werden. Die

in der Literatur beschriebenen Cellulose-Acetat-Folien konnten erfolgreich synthetisiert und untersucht werden. Hierbei wurde zunächst der Herstellungsprozess für die Folien optimiert.

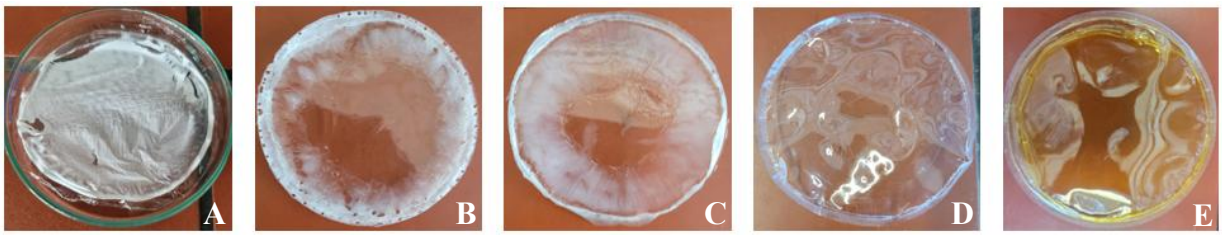


Abbildung 15. Optimierung der Cellulose-Acetat-Folien: (A) in einer Glaspetrischale gegossene Folie, (B) mit Plexiglasringen auf einem Glastisch gegossene Folie, (C) mit Stahlringen auf einem Glastisch gegossene Folie, (D) mit Stahlringen auf einem Glastisch gegossene Folie ohne Schlifffett und (E) Folie unter optimierten Gießbedingungen mit den zugesetzten Rh(acac)$(CO)_2$-Komplex und Triphenylphosphin als Liganden.

Wie in Abbildung 15 gezeigt, wurden die Folien in mehreren Schritten optimiert. Hierzu wurden auf eine nivellierbare Glasplatte Plexiglasringe mit Schlifffett aufgeklebt. Die so entstanden Formen sollten es ermöglichen glatte, identische Folien zu gießen. Wie in Abbildung 15B zu erkennen ist, reagierte das Cellulose-Acetat in den ersten Experimenten mit den gewählten Plexiglasringen, woraufhin diese durch Metallringe ersetzt wurden. Des Weiteren bestand initial das Problem, dass unter Verwendung von zu viel Schlifffett dieses von der Folie aufgenommen wurde (Abbildung 15C). In Abbildung 15E ist die verwendbare Folie nach den Optimierungsschritten gezeigt; dabei sind in dieser letzten Folie bereits der Rhodium-Komplex Rh(acac)$(CO)_2$ und der Ligand Triphenylphosphin (TPP) zugesetzt. Die Erhöhung der Konzentration der zugesetzten Komponenten (Rhodium-Komplex und Ligand) führte zu stark inhomogenen und instabilen Folien, die keine Reproduzierbarkeit während der Hydroformylierung aufwiesen.

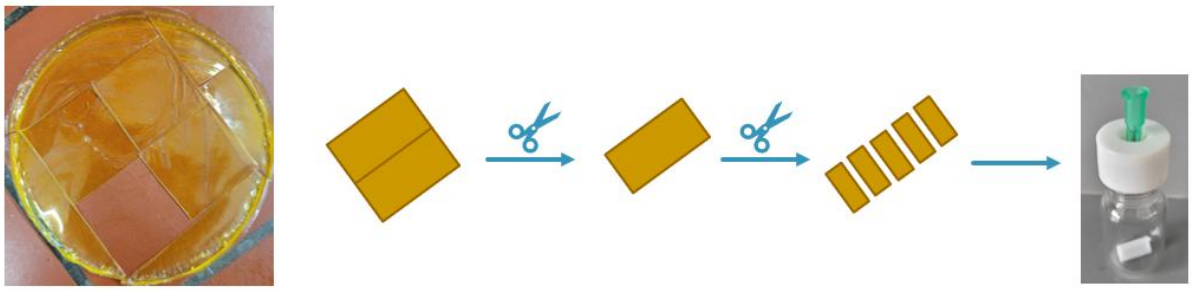


Abbildung 16. Standardvorgehen zur Anwendung der Polymerfolie als Hydroformylierungs-Katalysator.

Das allgemeine Vorgehen bei der Hydroformylierung mit den Polymer-Folien gestaltete sich wie folgt: Aus der Folie wurde ein 2x4cm großes Stück ausgeschnitten, das anschließend in kleine Stücke unterteilt wurden, die letztendlich in ein verschließbares Glasgefäß als Reaktionsgefäß gegeben wurden (Abbildung 16). Anschließend wurde das Glasgefäß mit Folie und Substrat in einen Autoklav gegeben, dabei wurde mit einer Kanüle für einen Gas- und Druckaustausch gesorgt. Daraus ergaben sich in Kombination mit den hergestellten Folien die in Tabelle 4 dargestellten Versuchsanordnungen und Ergebnisse. Wie die Ergebnisse aus Tabelle 4 zeigen, konnte mit den Literatur-beschriebenen Katalysator-Mengen keine Umsetzung beobachtet werden (Test 3), woraufhin diese deutlich erhöht wurden (Test 4) auf die Mengen, die auch ohne Folien vorliegen. Damit konnten dann zunächst gute Umsätze von 88 % im Vergleich zu 83 % ohne Folie beobachtet werden.

Tabelle 4. Hydroformylierungs-Experimente mit den Polymerfolien aus Abbildung 15 bzw. Abbildung 16 und im Vergleich mit dem Katalysator ohne Folie. Für Test 3 wurden Folien mit Rhodium-Komplex und Ligand in Konzentrationen aus der Literatur[19] gewählt, für Test 4 wurden die Konzentrationen deutlich erhöht in Anlehnung an die Experimente ohne Folie (Test 1).

4mL Sonnen-blumenöl		Substrat [mmol]	Katalysator [mol-%]		Umsatz [%]
			Triphenylphosphin	$Rh(acac)(CO)_2$	
Test 1	Katalysator ohne Folie	13	5	0,1	83
Test 2	Folie ohne Katalysator	13	0	0	0
Test 3	Folie mit Katalysator	13	0,65[a]	0,065[a]	0
Test 4	Folie mit Katalysator	13	5	0,1	88[b]

[a] nach Feldmann *et al.*[19]

[b] die initialen Experimente mit dieser Folie gaben zwar sehr gute Ergebnisse, wie Abbildung 17 zeigt, schwanken diese Ergebnisse jedoch sehr stark.

Im folgenden Experiment wurde untersucht, ob die Folie durchgehend homogen ist und gleichbleibende Ergebnisse in allen Teilen der Folie liefert. Hierfür wurden fünf gleichgroße Stück aus verschiedenen Bereichen derselben Folie geschnitten und für die Hydrofomylierung eingesetzt (Abbildung 17).

Es zeigte sich, dass sehr starke Unregelmäßigkeiten in der Katalyse mit den Folienstücken beobachtet werden können und die verschiedenen Stücke (hier mit A-E bezeichnet) stark variierende Umsätze liefern. Dabei tritt sowohl eine starke Schwankung innerhalb der Iterationen auf (bspw. liefert Folie A im ersten Durchgang mehr als doppelt so hohe Umsätze wie die Vergleichs-Folien) als auch zeigen sich die einzelnen Folien in ihrer Qualität stark schwankend (so liefert bspw. Folie A in der zweiten Iteration deutlich schlechtere Umsätze als fast alle anderen Folien).

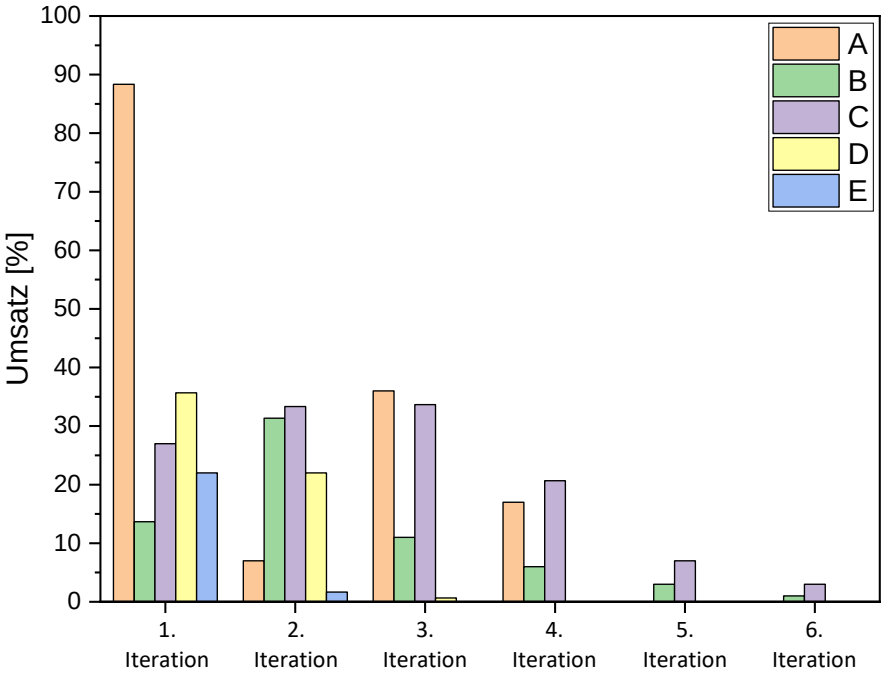


Abbildung 17. Umsatz der Polymerfolien-Stücke in bis zu sechs Wiederholungen der Hydroformylierung. A-E: fünf gleichmäßig geschnittene Folien-Stücke aus derselben Folie.

Die erhaltenen Daten zeigen also nicht nur eine starke Inhomogenität in den Folien, sondern legen auch die Vermutung nahe, dass es sich beim Triphenylphosphin um eine Art „Weichmacher“ für das Polymer handelt, der das *leaching* des Rhodiums aus dem Polymer heraus begünstigt. Hierzu passen auch die erhaltenen Daten aus einem Experiment, bei dem die Triphenylphosphin-Konzentrationen in den Folien angepasst wurden, um die Stabilität der Folie zu erhöhen (Abbildung 18).

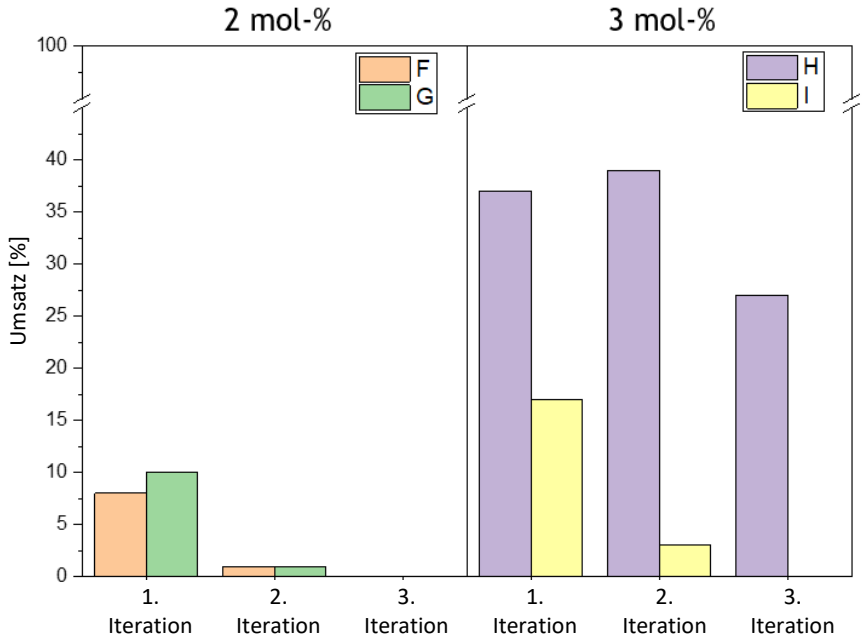


Abbildung 18. Umsätze nach Veränderung der Triphenylphosphin-Konzentration (2 bzw. 3 mol-%) in den Folien.

Da die vorangegangenen Experimente deutlich machten, dass das gewählte Polymer Cellulose-Acetat nicht wie gewünscht für eine Heterogenierung des Rhodiums geeignet ist, wurden analog weitere Polymere synthetisiert und untersucht. Hierfür wurden zunächst PVC und PVDF-co-HFP gewählt, um somit andere Eigenschaften der Folien zu erhalten. Wie in Abbildung 19 zu erkennen ist, erwiesen sich

auch diese beiden Folien-Typen nicht als geeignet, da sie entweder stark schwankende Ergebnisse zeigten (PVDF-co-HFP) oder gar keine Umsätze (PVC).

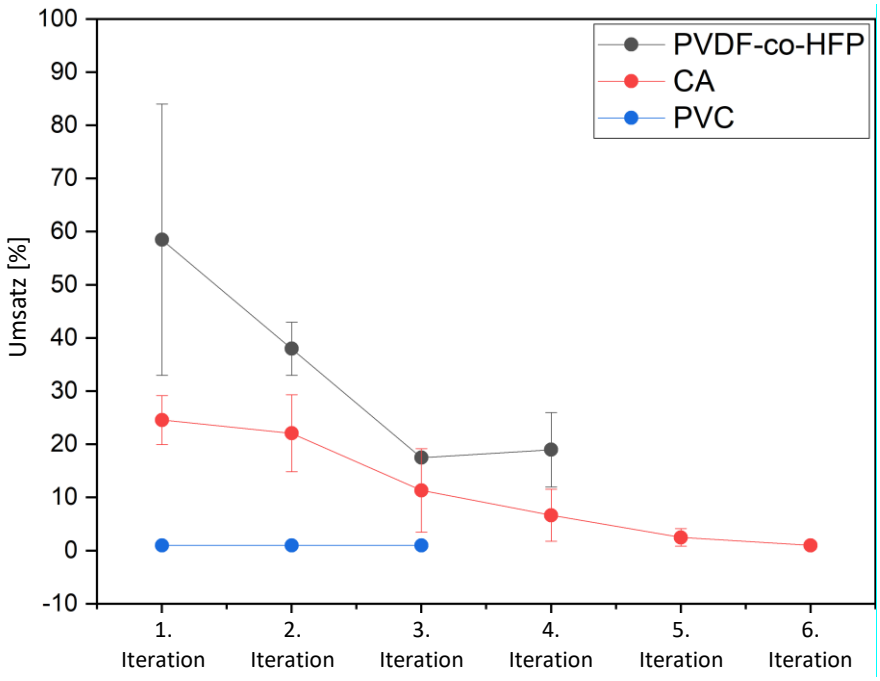


Abbildung 19. Umsätze der Hydroformylierungs-Reaktionen mit drei verschiedenen Polymer-Typen in bis zu sechs Wiederholungen.

Neben PVDF-co-HFP und PVC wurden des Weiteren ε-Caprolacton und PTFE untersucht, doch auch sie eigneten sich nicht für diese Anwendung. Schlussendlich wurde dieser Folien-basierte Ansatz zur Heterogenisierung des Rhodium-Katalysators nicht weiterverfolgt.

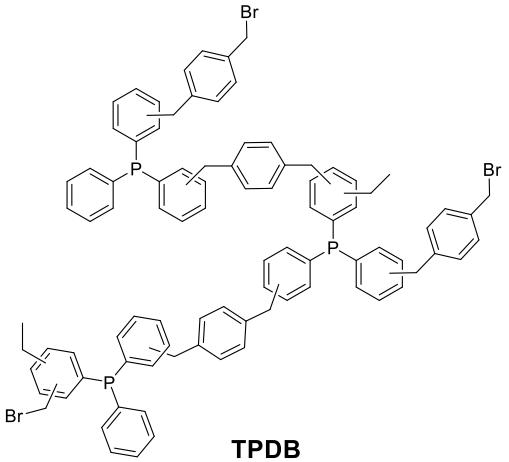
c-IVb) Verwenden eines Metall-Schwamms zur Immobilisierung von Rhodium

Die Idee zur Verwendung eines Metallschwamms als Rhodium-Träger entstand aus der Beobachtung, dass sich Rhodium bei der Hydroformylierung an den metallischen Autoklaven-Wänden ablagern kann und dort in der Lage ist, als Katalysator zu fungieren.

Es zeigte sich jedoch schnell, dass eine Übertragung dieser Beobachtung auf einen Metallschwamm nicht möglich war, da das Material passiviert war und das Rhodium somit nicht binden konnte; zudem kam es nach Kontakt mit Toluol und Rh(acac)(CO_2)-Komplex zur Bildung von Rost. Die Experimente wurden daher in einem frühen Stadium nicht weiterverfolgt.

c-IVc) Verwendung von porösen organischen Liganden zum Komplexieren von Rhodium

Bei den porösen organischen Liganden handelt es sich um ein von Gorbunov *et al.* verwendetes Heterogenisierungs-Konzept, bei dem Triphenylphosphin mit α,α‘-Dibrom-*p*-Xylol vernetzt wird, um so einen porösen Liganden zu erhalten, der Rhodium binden kann.[20] Dieser Rhodium-Ligand-Komplex (TPDB-Rh)(Abbildung 20) wurde in der Literatur erfolgreich in der Hydroformylierung von 1-Octen mit hervorragenden Umsätzen und einer sehr guten Rezyklisierbarkeit beschrieben.



TPDB

Abbildung 20. Poröser organischer Ligand nach Gorburov *et al.*[20]

Der poröse organische Ligand TPDB wurde in einer zweistufigen Synthese hergestellt und in einem Folgeschritt mit Rhodium versetzt. Im ersten Syntheseschritt wurde die Zwischenstufe TP(O)DB mit einer Ausbeute von 94 % erfolgreich synthetisiert. Diese Zwischenstufe wurde im Folgeschritt zum TPDB mit einer Ausbeute von 60 % umgesetzt; beide Synthesestufen wurden mittels IR nachgewiesen. Im letzten Schritt wurde das erhaltene Polymer mit Rhodium versetzt. Um den genauen Rhodium-Gehalt des erhaltenen Feststoffes zu bestimmen, wurde eine Probe an ein externes Analysen-Labor geschickt. Das Analysen-Ergebnis wies eine Rhodium-Konzentration von 1,41 Gew% und eine Phosphor-Konzentration von 4,91 Gew% aus. Dies ist sehr ähnlich zu der von Gorburov *et al.* ermittelten Rhodium-Konzentration von 1,2 Gew% und spricht für eine erfolgreiche Synthese. Mit dem erhaltenen Rhodium-Polymer durchgeführte Hydroformylierungen ergaben nach der ersten Iteration lediglich einen Umsatz von 4 %. Jedoch konnten in erneuten Hydroformylierungen mit rezyklisiertem Katalysator in der zweiten und dritten Iteration Umsätze von 16 % erreicht werden. Es wird vermutet, dass die anfänglichen niedrigen 4% von einer schlechten Durchmischung herrührten.
Um die Aktivität des Katalysators einordnen zu können, wurden Hydroformylierungen des Sonnenblumenöls direkt mit dem nicht-heterogenisierten $Rh(acac)(CO)_2$ in vergleichbaren Mengen durchgeführt. Berechnet auf den vom Analysen-Labor bestimmten Rhodium-Gehalt im Polymer wurden in dem mit TPDB-Rh durchgeführten Experiment 0,7 mg Rhodium verwendet. Unter Verwendung von vergleichbaren Mengen $Rh(acac)(CO)_2$ konnten ähnliche Umsätze erhalten werden (Abbildung 21).

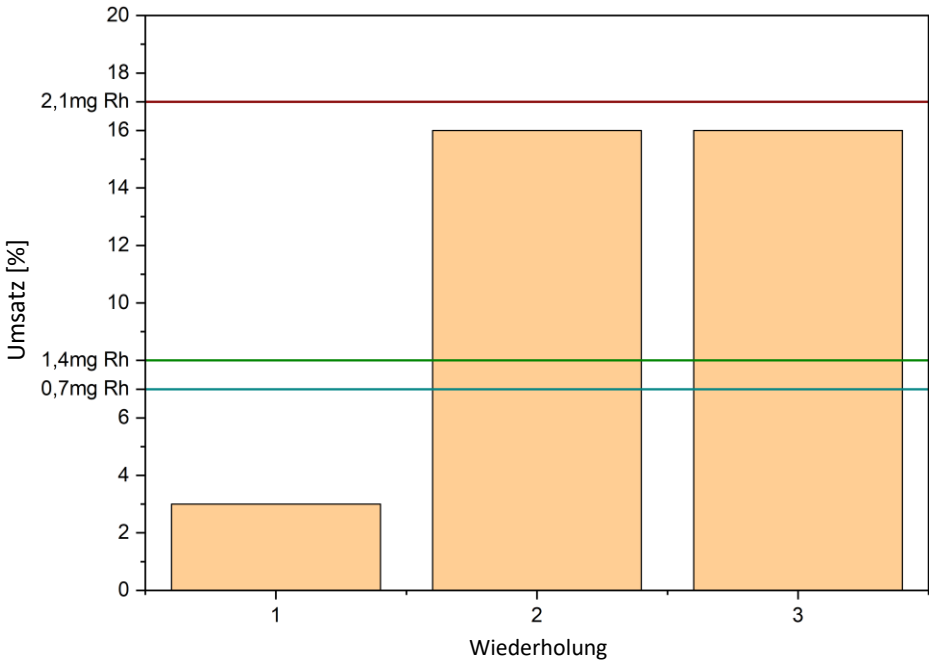


Abbildung 21. Umsätze der Hydroformylierung von Sonnenblumenöl mit TPDB-Rh bei 80 °C und 80 bar CO/H_2 für drei Wiederholungen. Die farbigen Linien repräsentieren die Umsätze unter Verwendung von nicht heterogenisiertem $Rh(acac)(CO)_2$ als Vergleichswert (hierfür können aufgrund des homogenen Vorliegens keine Wiederholungen durchgeführt werden und keine Iterationen angegeben werden).

Aufgrund des zunächst niedrig ausfallenden Umsatzes in der ersten Iteration unter Verwendung des TPDB-Rh Katalysators sollen die Versuche nochmals wiederholt werden. Jedoch zeigte sich in einem einen Monat später durchgeführten Wiederholungsversuch, dass sich die Werte zunächst nicht wiederholen ließen und keine Umsätze mit dem Rhodium-haltigen Polymer erhalten werden konnten. In einer daraufhin vom Analysen-Labor durchgeführten Elementaranalyse konnte im Gegensatz zur ursprünglichen Probe nun ein hoher Sauerstoffgehalt von knapp 7 % nachgewiesen werden. Dies lässt darauf schließen, dass aufgrund atmosphärischer Lagerbedingungen der Katalysator deaktiviert wurde. Dies ließe sich aber relativ einfach durch eine Lagerung unter Schutzgas adressieren und wird aktuell mit neu synthetisiertem Katalysator getestet.

c-IVd) Verwendung von 3V PPH_3-Netzwerken zum Komplexieren von Rhodium

Sun *et al.* beschreiben ein ähnliches System wie die TPDB-Rh Katalysatoren, bei dem aber mit Vinylgruppen funktionalisiertes Triphenylphosphin polymerisiert wird, um dadurch ein Polymer-Netzwerk zu erhalten, an das Rhodium gebunden werden kann.[21] Mit diesem 3V-PPh_3-Netzwerk wurde in der Literatur die Hydroformylierung von Ethylen, Propylen und 1-Dodecen untersucht. Beim von Sun *et al.* beschriebenen System handelt es sich um ein durch radikalische Polymerisation vernetztes Netzwerk aus funktionalisierten Triphenylphosphin-Liganden (Abbildung 22).

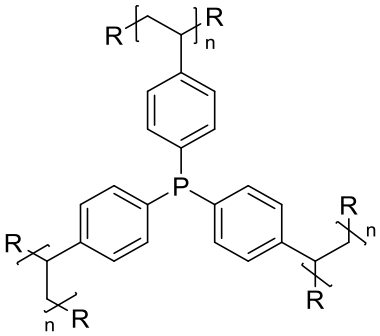


Abbildung 22. 3V-PPh_3-Netzwerk nach Jiang *et al.* zum Komplexieren von Rhodium.[21]

Bei der Synthese muss darauf geachtet werden, dass das Polymer solvo-thermisch in einem Autoklav synthetisiert wird, um durch große Poren auch eine große Oberfläche zu erzeugen. Nach erfolgreicher Synthese wurde das Polymer mit Rhodium versetzt und sowohl mittels Hydroformylierung charakterisiert als auch durch eine Elementaranalyse in einem damit beauftragten Analysen-Labor untersucht. Die vom Analysen-Labor durchgeführte Untersuchung zeigte hohe Anteile an Phosphor und Sauerstoff mit 10,67 % bzw. 5,93 %, aber nur sehr niedrige Anteile von Rhodium (0,15 %) am Katalysator. Diese Messwerte erklären die sehr schlechten Ergebnisse der durchgeführten Hydroformylierung, bei der Umsätze von lediglich 1% erzielt werden konnten. Sowohl der hohe Sauerstoffanteil als auch der niedrige Rhodium-Anteil im heterogenisierten Katalysator scheinen die Hydroformylierung zu hemmen. Eine Desaktivierung der TPP-Liganden durch Sauerstoff ist in der Literatur bekannt.[23] Aufgrund der sehr geringen Umsätze in diesen initialen Experimenten wurde der Ansatz nicht weiter verfolgt.

c-Ie) Verwendung der „Supported ionic liquid phase“ (SILP)-Technologie

Bei der sogenannten SILP-Technologie handelt es sich um mit ionischen Flüssigkeiten überzogene Silica-Partikel, die über Wechselwirkungen mit der ionischen Flüssigkeit das Rhodium binden können. Hierzu gibt es viele berichtete Hydroformylierungs-Experimente mit Kohlenstoffketten von 2 bis 4 Kohlenstoffen.[24] Durch die Möglichkeit, drei Parameter (Silica, ionische Flüssigkeit und verwendeten Katalysatorkomplex) einzustellen, ist dieses unter den untersuchten Heterogenisierungs-Methoden die flexibelste. Bei dem bislang untersuchten SILP-Katalysator handelt es sich um ein System von Wasserscheid *et al.*. Dieser Katalysator wurde gewählt, da sämtliche Komponenten bereits kommerziell erhältlich sind und somit leicht eingesetzt werden können.

Für die einleitenden Experimente zu diesem Heterogenisierungs-Ansatz wurde zunächst ein SILP-Katalysator nach Wasserscheid *et al.*[22] gewählt, der erfolgreich synthetisiert werden konnte (Abbildung 23). Dieser Katalysator wurde wie auch die anderen zuvor durch eine Elementaranalyse genauer charakterisiert. Diese extern durch eine Analysen-Labor durchgeführte Untersuchung zeigte lediglich geringe Phosphor- und Rhodium-Anteile von 0,54 % bzw. 0,92 %.

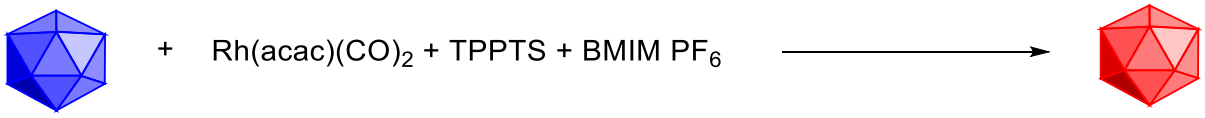


Abbildung 23. Schematische dargestellte Synthese der SILP-Partikel nach Wasserscheid *et al.*[22]

Die mit diesen SILP-Partikeln durchgeführte Hydroformylierung zeigt, dass auch bei hohen Katalysatorkonzentrationen keine erfolgreiche Hydroformylierung von Sonnenblumenöl möglich ist, was sehr wahrscheinlich auf die geringen Anteile an Phosphor und Rhodium zurückzuführen sein dürfte. Aktuell ist nicht geplant die Verwendung von SILP-Partikeln weiter zu untersuchen, jedoch wird ggf. in Zukunft noch einmal darauf zurückgegriffen, da in diesem Bereich noch viele Möglichkeiten zur Veränderung der Heterogenisierungsmethode bestehen.
Vier der fünf hier untersuchten Ansätze zur Heterogenisierung des Katalysators für die Hydroformylierung wurden nach den beschriebenen einleitenden Experimenten vergleichend nach verschiedenen Aspekten bewertet (der Metall-Schwamm wurde hier bereits verworfen, da er sich im frühen Stadium als nicht geeignet für weitere Untersuchungen zeigte). Die anderen Systeme wurden im Hinblick auf folgende Parameter vergleichend evaluiert: Komplexität der Synthese (A), Anwendung (B), Abtrennbarkeit (C), Reproduzierbarkeit (D), Leaching (E), Umsatz (F) und Rezyklisierung (G) getestet.

Katalysatorsystem	A	B	C	D	E	F	G
Polymerfolie							
TPDB							
3V PPH_3							
SILP							

Abbildung 24. Zusammenfassende Auswertung der verschiedenen Technologien zur Heterogenisierung des Katalysators nach den sieben Aspekten Komplexität der Synthese (A), Anwendung (B), Abtrennbarkeit (C), Reproduzierbarkeit (D), Leaching (E), Umsatz (F) und Rezyklisierung (G). Grün: Vielversprechend, gelb: eingeschränkt nutzbar / zutreffend; rot: nicht geeignet.

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse grafisch wie in Abbildung 24 gezeigt darstellen. Am vielversprechendsten ist hierbei der poröser organischer Ligand TPDB nach Gorbunov *et al*., der in den zukünftigen Experimenten weiter untersucht werden soll.

c-V) Upscaling der Hydroformylierung

Um das *Upscaling* der Versuchsbedingungen untersuchen zu können, wurde im Rahmen des Projektes ein 1L Autoklav von Parr angeschafft (Abbildung 25).

Abbildung 25. 1L-Autoklav von Parr, im geöffneten (links) und geschlossenen (rechts) Zustand.

Als Eingangsversuch (Abbildung 26) wurden 400 mL Sonnenblumenöl zusammen mit 100 mg $Rh(acac)(CO)_2$ und 5 g Triphenylphosphin über 72 Stunden bei einem Druck von 80 bar CO/H_2 und 80 °C hydroformyliert (

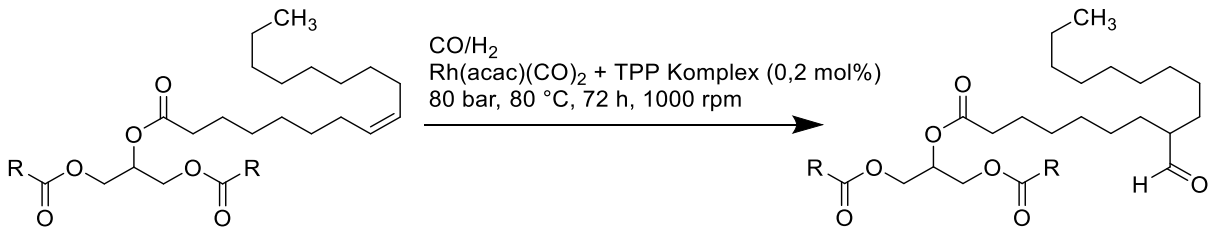


Abbildung 27). Die lange Reaktionszeit von 72 Stunden ergibt sich hierbei daraus, dass nach 24 und 48 Stunden das Synthesegas nachgefüllt werden musste, da dieses nach den ersten 24 h zu 75 % und den folgenden 24 h zu 25 % verbraucht war.

Abbildung 26. 1L Autoklav befüllt mit dem Reaktionsgemisch der Hydroformylierung von Sonnenblumenöl.

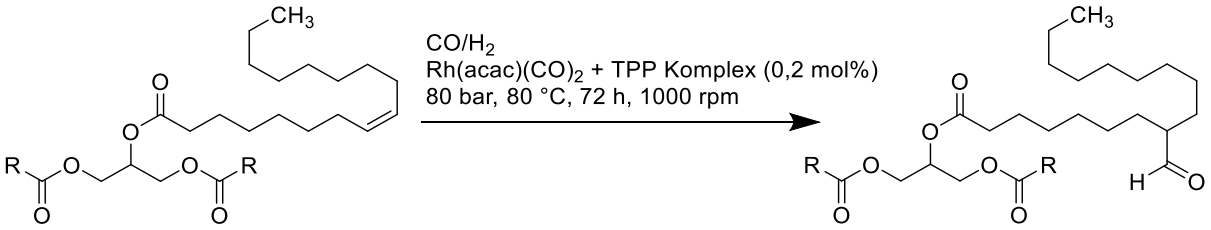


Abbildung 27. Reaktionsbedingungen der hochskalierten Hydroformylierung von 400mL Sonnenblumenöl.

Nach abgeschlossener Reaktion konnte das hydroformylierte Sonnenblumenöl mit einem Umsatz von 96% erhalten werden. Mit diesem den Rhodium-Katalysator enthaltenen hydroformylierten Sonnenblumenöl (400 mL) wurden Untersuchungen zur Extraktion des Katalysators vom Sonnenblumenöl durchgeführt; zwei verschiedene Extraktionswege sollten hierbei vergleichend untersucht werden: Das Filtern des Öls über Aktivkohle und über Aluminiumoxid. Bei diesen Tests wurden je 15 g des entsprechenden Filtermaterials (Aktivkohle bzw. Aluminiumoxid) in eine Glasfritte gegeben, um darüber das Öl zu filtern. Verbliebenes Filtermaterial wurde aus dem Öl unter Verwendung eines Spritzenfilters entfernt. Nachdem das Öl gefiltert worden war, wurde es zu 50 % mit frischem Sonnenblumenöl vermischt und das Gemisch im Anschluss erneut bei 80 °C und 80 bar CO/H_2 hydroformyliert, dieses Mal ohne den erneuten Zusatz von Katalysator (Abbildung 28).

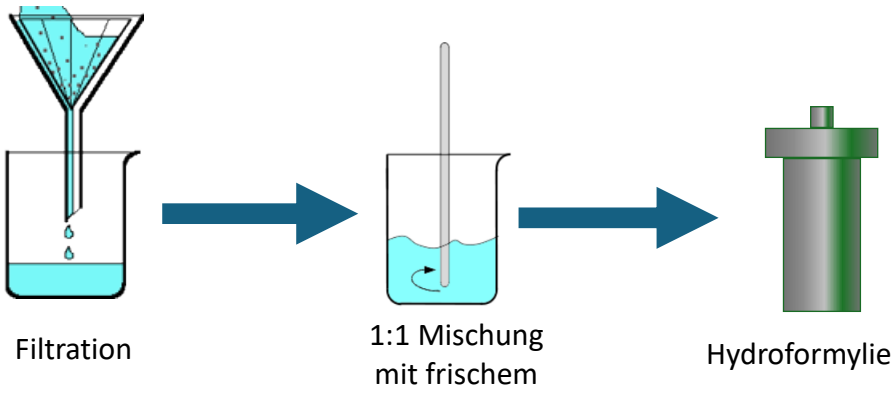


Abbildung 28. Arbeitsschritte zur Aufreinigung und Untersuchung des hydroformylierten Sonnenblumenöls.

Von beiden Aufarbeitungsmethoden wurden Proben genommen, die mittels NMR-Spektroskopie untersucht wurden, um dadurch den Anteil an Aldehydgruppen zu bestimmen (Tabelle 5).

Tabelle 5. Aldehydgruppen-Anteil im hydroformylierten Sonnenblumenöl nach entsprechenden Aufarbeitungsschritten.

	Nach Filtration	**Nach 1:1 Mischung mit frischem Sonnenblumenöl**	**Nach Hydroformylierung**
Aktivkohle	86%	38%	87%
Aluminiumoxid	67%	35%	74%

Wie Tabelle 5 zeigt, ist weder die Filtration über Aktivkohle noch über Aluminiumoxid geeignet, den Rhodium-Katalysator effektiv aus dem hydroformylierten Öl zu entfernen, da es nach der Filtration in beiden Gemischen erneut zur Bildung von Aldehyden kommt, wenn das gefilterte Gemisch den Reaktionsbedingungen ausgesetzt wird, auch ohne dass erneut Katalysator zugesetzt wird. Dies hebt die Bedeutung der Entwicklung entweder einer Heterogenisierungs-Methode für den Katalysator oder einer effektiven Extraktionsmethode hervor.

c-VI) Anwendungstests beim Kooperationspartner Windmöller & Projekttreffen mit dem Wirtschaftsexperten Herrn Ulrich Windmöller und Forschern der Windmöller-Unternehmensgruppe (UWI)

In diesem Vorhaben werden Pflanzenöle und pflanzliche Fettsäuren mit Hilfe von biokatalytischen Methoden im Prozesskonzept (A) und mit Hilfe von chemokatalytischen Methoden im Prozesskonzept (B) so funktionalisiert, dass durch das Einfügen von zwei oder mehreren Hydroxylgruppen je Molekül diese zu Polyurethanen polymerisiert werden können. Dabei ist zur Ausbildung eines Polymernetzwerkes diese Mehrfachfunktionalität unbedingte Voraussetzung. Sehr häufig bestimmt der Vernetzungsgrad die physikalischen Eigenschaften des Polymers und damit auch dessen Gebrauchseigenschaften. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass Polyisocyanate als Reaktionspartner der Polyole zur Polyurethannetzwerkausbildung eingesetzt werden.

Da die verwendeten Rohstoffe Naturstoffe sind, ist eine genaue Charakterisierung / Analytik der Fettsäurezusammensetzung wichtig. So konnte im Rahmen des (**AP2-1**) erfolgreiche eine Fettsäureanalytik mittels GC-MS etabliert werden. Tabelle 6 zeigt beispielhaft eine solche Zusammensetzung am Beispiel verschiedener Polyole vom Typ **2b**. Die gleiche Analytik findet bei den Ausgangsrohstoffen, den Pflanzenölen und pflanzlichen Fettsäuren, statt. Neben der Untersuchung mittels GC/MS werden weitere wichtige Parameter nasschemisch bestimmt wie bspw. die Iodzahl oder die Hydroxylzahl. Die für den Grad der Vernetzung wichtige Funktionalität lässt sich mittels NMR bestimmen, diese Untersuchungen werden durch UBI durchgeführt.

Tabelle 6. Fettsäurespektrum dreier verschiedener. Polyolproben des Typs **2b**, bestimmt mittels GC-MS bei der UWI.

	HOSO UWI22-016		
		nach Anpassung ab C18:1	
	Prü511/17	Prü511/24	Prü511/25
OH-Zahl (OQ)	158	145	125
OH-Zahl (UWI)	162	141	137
Funktionalität aus NMR	2,3	2,4	2,2
Theoretische OHZ (OHZ 165 - 170, MW Hyfol 1029) bezogen auf NMR	125	130	120
IZ-Zahl (OQ)	1	1,7	2,1
C3-ol			
Vorlauf bis C16:0	0,27	0,2	0,26
2-EH-ol			
2-EH-Säuremethylester	0,18	0,13	0,38
2-EH-Säure			
3-Methoxy-1,2-propandiol	0,36	0,52	0,55
C12:0			
C14:0	0,04	0,04	0,04
C16:0	3,81	3,82	3,98
C16:1,2,3 + C17 + iso C18 + Komponente	0,04	0,03	0,03
Glycerin	2,48	1,89	1,75
Stearinsäuremethylester (C18:0)	3,99	4,84	5,1
Ölsäuremethylester cis (C18:1 cis)	0,01		0,03
Ölsäuremethylester trans (C18:1 trans)		0,02	0,05
Octadiensäuremethylester-Bereich (C18:2)	0,08	0,33	0,38
Octatriensäuremethylester-Bereich (C18:3)	0,65	0,91	1,13
C20:0	0,29	0,3	0,3
C20:1			
C22:0	0,94	1	1
C22:1			
Zwischenlauf	0,11	0,15	0,18
9,(10)-Formylstearinsäuremethylester K1	0,16	0,04	0,04
9,(10)-Formylstearinsäuremethylester K2		0,26	0,19
andere Formylstearinsäuremethylester-Komponenten	0,81	0,66	0,91
C24:0	0,33	0,36	0,37
Komponenten	0,01		
Methylolstearinsäuremethylester	71,07	73,07	72,31
andere Methylolstearinsäuremethylester	14,37	11,43	11,02
Nachlauf			
Summe Methylolstearinsäure	**85,44**	**84,5**	**83,33**

Besonders geeignete Polyole zur Herstellung von Polyurethanen (PU) zeichnen sich durch eine sehr niedrige Iodzahl, d.h. nur noch sehr wenige ungesättigte Fettsäuren sind im Pflanzenöl enthalten, und durch eine möglichst hohe Ausbeute/Umsatz von ungesättigten Fettsäuren zu Hydroxylhaltigen Fettsäuren aus. In Tabelle 6 sind also besonders hohe Konzentrationen an Methylolstearinsäure-methylestern erwünscht, neben einer möglichst geringen Konzentration an gesättigten Fettsäuren. Letztere können nicht in das Polymernetzwerk einreagieren und können bspw. die makroskopische Schaumbildung behindern.

Ein besonders wichtiges Kriterium für den Produktionsprozess zur Herstellung von Polyurethanen (PU), aber auch zur möglichst vollständigen Polymerisierung ist die Reaktivität der Polyole. So werden nach Prozesskonzept (**A**) Polyole erhalten, welche sekundäre Hydroxylgruppen enthalten; diese Polyole des Typus **2a** ähneln in ihrer Reaktivität also bspw. dem Rizinusöl. Währenddessen liefert das Prozesskonzept (**B**) Polyole, die durch die Methylolgruppe viel reaktivere Hydroxylgruppen enthalten. Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeiten bei einer gegebenen Polyol-Rezeptur (Katalyse und weitere Additive, Isocyanat-Typ) kann eine Viskositätsmessung während der Polymerisation sehr gut zur Bestimmung der verschiedenen Reaktivitäten genutzt werden (Abbildung 29).

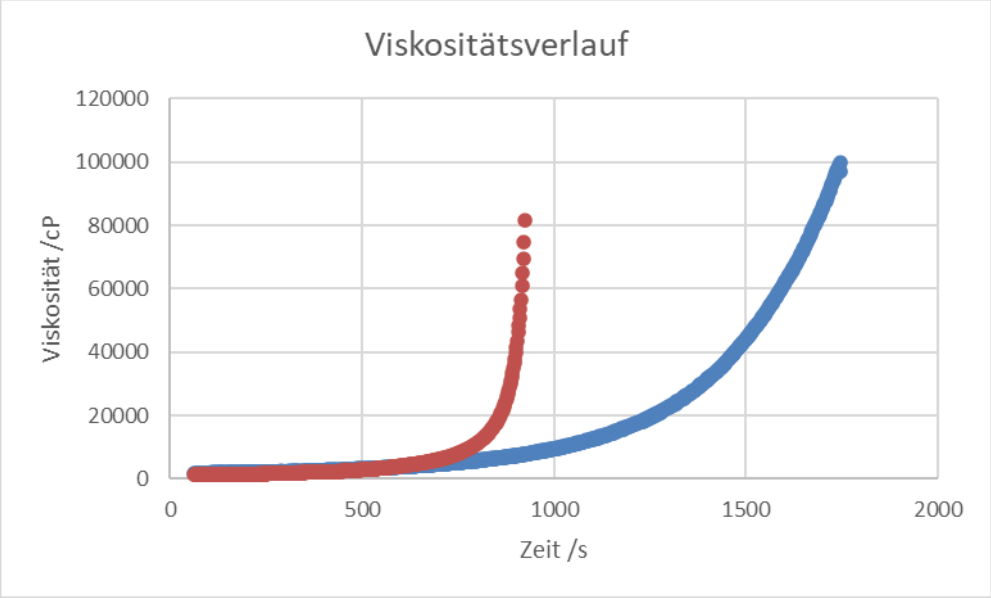


Abbildung 29. Viskositätsanstieg während einer Polymerisation: unterschiedliche Geschwindigkeit der Aushärtung durch verschieden reaktive Polyole bei sonst gleicher Rezeptur.

Abbildung 29 zeigt den Anstieg der Viskosität während einer Polymerisation beginnend bei einer Flüssigkeit hin zu einem festen Polymer. Die rote Kurve zeigt dabei die Umsetzung eines Polyols-Typ **2b** mit primären Hydroxylgruppen im Vergleich zu einer Umsetzung von Rizinusöl mit sekundären Hyroxylgruppen (blaue Kurve), welche deutlich langsamer verläuft trotz gleicher Katalyse.

Zur Produktion eines Polyurethan-Bodenbelages der Firma Windmöller werden völlig verschiedene Polyurethansysteme eingesetzt: so besteht die Nutzschicht aus einem besonders abriebbeständigen und lichtechten aliphatischen Polyurethan, während der Rücken im Wesentlichen aus einem aromatischen Polyurethan besteht, basierend auf einem aromatischen Polyisocyanat und Rizinusöl. Das zur Herstellung der Nutzschicht verwendete aliphatische Isocyanat weist eine deutlich geringere Reaktionsgeschwindigkeit auf und benötigt damit deutlich länger bis zur vollständigen Durchhärtung und Vernetzung. Die Endeigenschaften werden erst nach 1 Woche erreicht. Hier ist die Verwendung

von reaktiven Polyolen absolut notwendig. Die von der UBI hergestellten Muster Typ **2b** sind hier zunächst auf ihre Eignung in der Nutzschicht geprüft worden, da sie eine hohe Reaktivität aufweisen und gleichzeitig aufgrund des sehr geringen Gehaltes an ungesättigten Fettsäuren auch eine hohe Lichtechtheit aufweisen sollten.
Dazu wurden 100 bis 250 µm starke Polyurethanfilme hergestellt. Verglichen wurden dabei UBI-Polyol Typ **2b**, in der Tabelle 7 als „Hyfol" bezeichnet mit den aktuell eingesetzten petrochemischen Polyolen, in der Tabelle 7 als „Standard DS 150 µm" bezeichnet. Die jeweiligen Rezepturen wurden mit den gleichen Additiven versetzt und die Aushärtung erfolgte mit dem gleichen aliphatischen Polyisocyanat. Die so erhaltenen Polyurethanfilme wurden auf ihre Fleckbeständigkeit mit diversen Haushaltschemikalien geprüft und einer beschleunigten UV-Alterung durch sehr intensive UV-Bestrahlung ausgesetzt.

Tabelle 7. Vergleich der Fleckbeständigkeit von PU-Filmen, „Hyfol" = UBI Polyolmuster Typ **2b**

Probe:	NaOH, 25%	H_2O_2, 30%	HCl, 10%	Methylenblau, 0,15%	Schuhcreme, schwarz	Senf	Betaisodona	Haarfärbemittel rot
Standard DS 150µm	0	0	0	1	0	2	3	2
Hyfol 22-014	0	0	0	1	1	1	3	1
Hyfol 22-014 mit Tinuvin 400	0	0	0	1	1	1	3	1
Hyfol 22-024	0,5	0	0	0,5	0,5	1	2	1

Erstaunlicherweise weisen die Hyfole" eine sehr gute und vergleichbare Fleckbeständigkeit zu den PU aus petrochemisch-basierenden Polyolen hergestellt, auf. Dies ist umso überraschender, als dass viele kommerziell erhältliche, auf nachwachsenden Rohstoffen basierende Polyolen hergestellte PUs hier häufig deutlich schwächer abschneiden. Beispiele für industriell verfügbare Polyole basierend auf nachwachsenden Rohstoffen sind von der BASF: Sovermole, von Firma Altropol: Neukapole, von Firma Hobum: Merginole und viele mehr. Diese Produkte basieren auf anderen chemischen Synthesen und weisen häufig noch Doppelbindungen auf und sind häufig wenig reaktiv.

Abbildung 30 zeigt die PU-Filme nach 7 Tagen intensiver UV-Belastung. Der untere Bereich der Filme wurde dabei abgedeckt, der obere Teil war der UV-Strahlung ausgesetzt. Linker PU-Film: Standard DS, rechter PU-Film: „Hyfol". PU-Filme basierend auf dem Polyol Typ **2b** schneidet dabei nur wenig schlechter ab als der Standardfilm. Die untersuchten Polyole können also zu einem sehr hohen Anteil die bisherigen petrochemisch basierenden Polyole in der untersuchten Polyurethan-Nutzschicht bei Bodenbelägen ersetzen.

Standard Hyfol

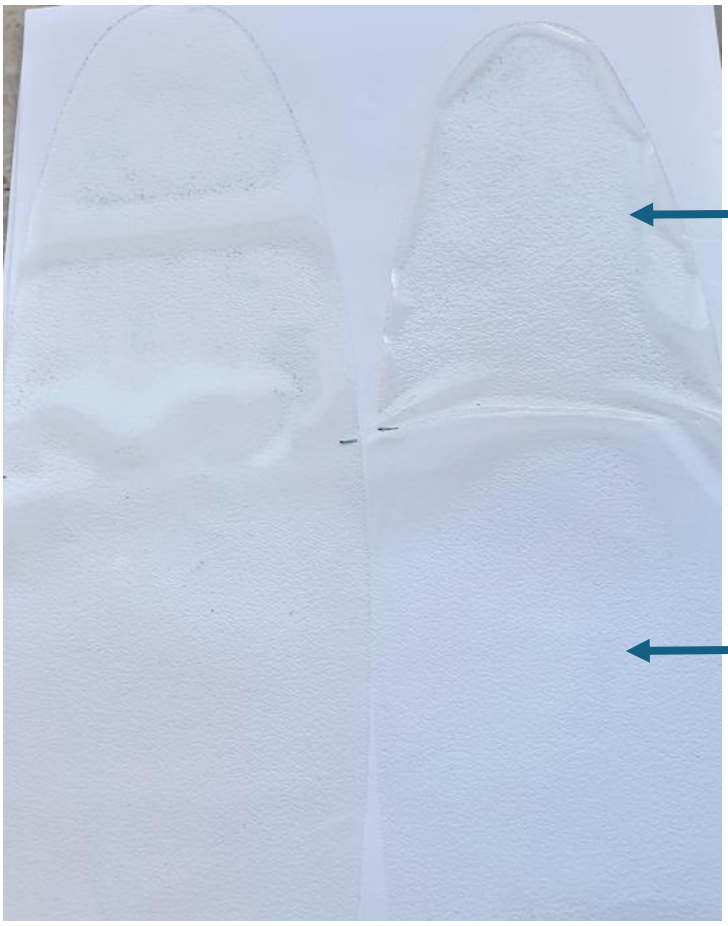


Abbildung 30. PU-Filme nach 7 Tagen intensiver UV-Belastung. Der untere Bereich der Filme wurde dabei abgedeckt, der obere Teil war der UV-Strahlung ausgesetzt. Linker PU-Film: Standard DS, rechter PU-Film: „Hyfol". PU-Filme basierend auf dem Polyol Typ 2b schneidet dabei nur wenig schlechter ab als der Standardfilm.

Die Herstellung des Polyurethan-Bodenbelages erfolgt bei der Firma Windmöller in einem zweistufigen Verfahren: zunächst wird die Nutzschicht zusammen mit der Dekor- und einer Verstärkungsschicht erzeugt. Danach wird auf einer weiteren Produktionsstraße der Bodenbelagsrücken produziert, in dem das zuvor hergestellte Halbzeug direkt beschichtet wird.
Diese Rückenbeschichtung wird aus einer eher langsam reagierenden, auf Rizinusöl basierender PU-Rezeptur erzeugt (Tabelle 8). Hier wäre also der Einsatz des Polyol-Typs **2a** besonders vorteilhaft, gleichwohl wurde die mögliche Einsatzmenge des Typs **2b** „Hyfol" geprüft. Dazu wurden Abmischungen des Rizinusöls mit verschiedenen Anteilen Hyfol auf ihre Eigenschaften untersucht. Besonders betrachtet wurde die Verarbeitbarkeit anhand der sogenannten Reaktions- und Topfzeit.

Tabelle 8. Rezepturen mit steigendem Anteil Hyfol zur Bestimmung der Reaktiosnzeiten in der PU-Aushärtung.

	010-1	**010-2**	**010-3**	**010-4**	**010-5**	**010-6**	**010-7**	**010-8**	**010-9**	**010-10**	**010-11**
Dicke [mm]	5,63	5,41	4,97	4,86	4,29	4,21	4,19	3,94	4,4	4,26	3,88
Gewicht [g]	2,005	1,912	1,882	1,879	1,905	1,93	1,903	1,856	1,929	1,898	1,849
Hyfol [%]	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Reaktionszeit [s]	36	37	36	34	32	28	29	27	26	23	21

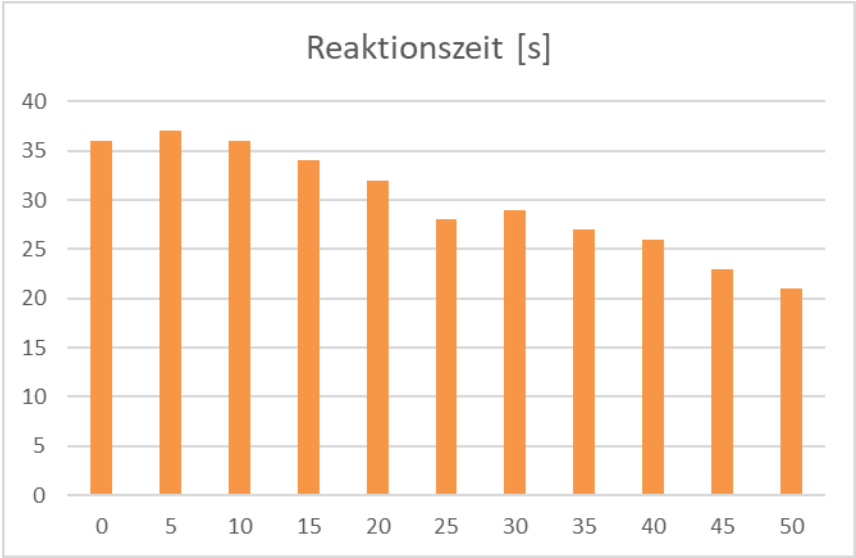


Abbildung 31. Graphische Darstellung der Reaktionszeiten der Rezepturen aus Tabelle 8.

Abbildung 31 zeigt sehr deutlich, wie die Reaktionszeiten mit steigendem Anteil Hyfol in der Rezeptur abnehmen. Anhand dieser Untersuchung lässt sich die noch verarbeitbare Menge Hyfol in Rizinusöl bei gegebener Katalyse auf der Produktionsanlage bestimmen. Da hier ein „langsam“ reagierendes PU-System aufgrund der Analgenparameter notwendig ist, können bis zu 15 % Hyfol eingesetzt werden. Eine weitere Erhöhung des Anteils ist nur nach weiterer Modifikation des Katalysatorsystems und Anpassung der Prozesstemperaturen möglich.

Im Verlaufe der Untersuchungen ist die deutlich höhere Affinität und Kompatibilität zu Wasser des Polyols Typ **2**b aufgefallen. Immerhin handelt es sich hier um einen Pflanzenöl-basiertes Molekül und damit ein eher hydrophobes Molekül wie es bspw. Rizinusöl darstellt. Dieses häufig zur PU-Herstellung verwendete natürliche Polyol hat nur eine sehr begrenzte Kompatibilität zu Wasser und macht daher die Herstellung von PU-Schäumen mit geringer Dichte aus Rizinusöl nur sehr begrenzt möglich.
Es wurden daher Rezepturen mit erhöhtem Wasseranteil (bis zu 2 %) untersucht und daraus mit aromatischen Polyisocyanaten PU-Schäume hergestellt und deren Dichte und Stauchhärte bestimmt (Tabelle 9).

Tabelle 9. Rezepturen Hyfol mit verschiedenem Wassergehalt.

Probe	**Iso-Typ**	**Index**	**Wasseranteil**	**Polyol**	**Dichte [g/L]**	**Stauchhärte [N]**
A	pMDI	1	0,5	Hyfol	126	32,8
B			1		80	21,9
C			2		53	26,9
D	Std.-Iso		0,5		127	23,9

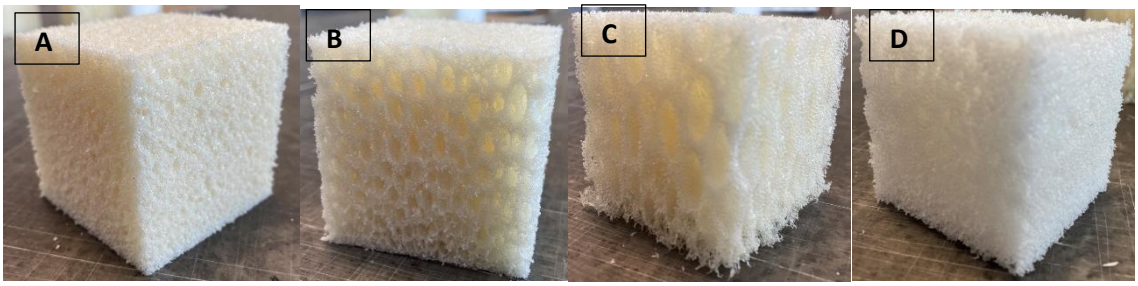


Abbildung 32. PU-Schäume aus den Rezepturen in Tabelle 9 mit verschiedenen Dichten.

Die erhaltenen PU-Schäume zeigen mit steigendem Wassergehalt die erwartete geringere Dichte, allerdings vergröbert sich die Schaumstruktur sehr deutlich. Hier muss eine weitere Rezepturentwicklung stattfinden, um eine gleichmäßige und vergleichbare Schaumstruktur zu erzeugen. Im Weiteren wurden die Alterungseigenschaften der PU-Schäume geprüft, insbesondere wurden eine Wärmelagerung und eine Hydrolyse-Alterung durchgeführt. Da sich aber die Schäume in ihrer Struktur so sehr unterscheiden, sind keine Aussagen zur Alterungsbeständigkeit möglich. Hier muss eine weitere Additivierung und Optimierung stattfinden, um dann die Eigenschaften dieser Schäume mit konventionell erzeugten Schäumen vergleichen zu können.

Aufgrund der sehr guten Verwendbarkeit der UBI-Polyole in den PU-Anwendungen des PU-Bodenbelages der Windmöller GmbH wird ein angestrebt, einen solchen Bodenbelag als Demonstrator herzustellen. Weiterhin wird weiter an der Rezepturentwicklung von PU-Schäumen mit niedrigerer Dichte gearbeitet, um die Schaumstruktur gleichmäßiger zu erzeugen. Danach soll ein Vergleich zu PU-Schäumen aus petrochemisch basierten Polyolen erzeugt werden.

Im weiteren Projektabschnitt bestand die Aufgabe in der Herstellung eines Demonstrators, um die Eignung der entwickelten Polyole (Typ 2b) zur Herstellung von Polyurethan-Bodenbelägen nachzuweisen und somit eine kommerzielle Anwendung in diesem Bereich aufzuzeigen.
Wie bereits beschrieben besteht der Bodenbelag aus einem Mehrschichtsystem, welches in zwei Produktionsschritten erzeugt wird. Zunächst wird die Nutzschicht zusammen mit der Dekor- und Verstärkungsschicht erzeugt. Danach wird auf einer weiteren Produktionsstraße der Bodenbelagsrücken produziert, in dem das zuvor hergestellte Halbzeug direkt beschichtet wird. Besondere Bedeutung hat die Nutzschicht, die den größten Anteil an den Gebrauchs-eigenschaften des Bodenbelages hat. Zur Herstellung dieser Nutzschicht ist eine geeignete Rezeptur entwickelt worden mit einem Gehalt von 48 Gew.-% eines Polyols Typ 2b mit der Produktbezeichnung „Hyfol“.
Im Labor werden dann ca. 1 m² Nutzschicht erzeugt und mit Dekor- und Verstärkungsschicht zum Halbzeug ausgerüstet. Danach wird dieser Aufbau mit einem Belagsrücken aus einem Polyurethan mit einem Gehalt von 10 Gew.-% Hyfol in der Polyurethanmatrix beschichtet. Dieser Prüfling wird nun den physikalischen Prüfungen unterzogen.
Grundsätzlich werden Bodenbeläge anhand ihrer Verwendung und der daraus folgenden Beanspruchung in Nutzungsklassen gemäß DIN EN ISO 10874 eingeteilt:

Wohnen (Bereiche mit privater Nutzung)

- Klasse 21 / mäßig: Räume mit geringer Nutzung, wie z.B. Schlafzimmer
- Klasse 22 / normal: Räume mit mittelstarker Benutzung, z.B. Wohnräume und Eingangsbereiche
- Klasse 23 / stark: Räume mit intensiver Nutzung, wie z.B. Wohnräume und Eingangsbereich

Gewerblich (Bereiche mit öffentlicher und gewerblicher Nutzung)

- Klasse 31 / mäßig: Bereiche mit geringer und/oder zeitweiser Nutzung, wie z.B. Hotelzimmer, Einzelbüros, Konferenzräume
- Klasse 32 / normal: Bereiche mit mittelstarkem Verkehr, wie z.B. Hotel, Einzelbüros, Klassenzimmer und kleine Läden
- Klasse 33 / stark: Bereiche mit starkem Verkehr, wie z.B. Großraumbüros, Mehrzweckhallen, Schulen oder Kaufhäuser
- Klasse 34 / sehr stark: Bereiche mit sehr starker Nutzung, wie z.B. Kaufhäuser, Mehrzweckhallen, Schalterhallen oder Flughäfen

Industriell (Bereiche die von der Leichtindustrie genutzt werden)

- Klasse 41 / mäßig: Räume in denen überwiegend im Sitzen gearbeitet wird, mit gelegentlichem Fahrzeugverkehr, wie z.B. Elektronik- oder Feinmechanikwerkstätten
- Klasse 42 / normal: Bereiche in denen die Arbeit überwiegend im Stehen ausgeführt wird und mit Fahrzeugverkehr, wie z.B. Lagerräume
- Klasse 43 / stark: industrielle Bereiche, u.a. Lager- und Produktionshallen

Die Zuordnung zu diesen Nutzungsklassen erfolgt anhand einer Vielzahl von physikalischen Prüfungen, welche im Labor die Belastung des Bodenbelages während der Nutzungsphase nachbilden sollen. Diese Anforderungen steigen mit ansteigender Nutzungsklasse von vergleichsweiser geringer Beanspruchung im privaten Wohnbereich, über deutlich höhere Anforderungen im gewerblichen Bereich, bis hin zu den höchsten Anforderungen bei Verlegung in industriell genutzten Bereichen.
Neben den bereits im Zwischenbericht gezeigten Test für die Fleckbeständigkeit gegenüber Haushaltschemikalien und der Widerstandsfähigkeit gegenüber einer Alterung durch UV-Strahlung (bspw. durch intensive Sonneneinstrahlung) der Nutzschicht allein, soll hier nun auch auf die Beständigkeit gegenüber mechanischen Belastungen eingegangen werden: Kratzbeständigkeit nach Erichsen, Mikrokratzbeständigkeit nach DIN EN 16094, sowie zerstörendes Kratzen im „Shaw“-Test und die Widerstandsfähigkeit gegen Abrieb durch Belastung mittels Schleifmittel, Körnung P60 mittels Martindaletest.

Ergänzend zu den Ergebnissen der reinen Nutzschicht zeigen die folgenden Abbildungen das Ergebnis des beschleunigten UV-Tests und der Fleckbeständigkeit (Abbildung 33) gegenüber ausgewählten Chemikalien des vollständigen Produktaufbaues des Demonstrators. Hier zeigt sich erneut, dass der hergestellte Demonstrator auch als vollständiger Bodenbelag die sehr guten Ergebnisse bei der UV- und der Chemikalienbeständigkeit aufweist: im belichteten Bereich des Musters in Abbildung 33 zeigt sich nur eine geringe Verfärbung des Musters, welche sich überwiegend im Bereich der Farbpigmente des Druckes befindet. Zudem führen die getesteten Chemikalien zu keiner sichtbaren Fleckenbildung unter den genormten Versuchsbedingungen auf der Demonstratoroberfläche.

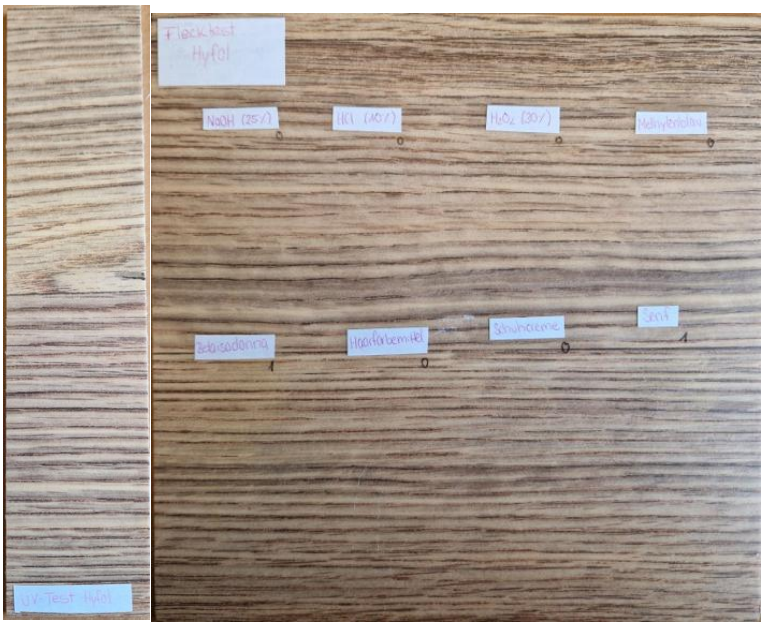


Abbildung 33. Links: UV Test, rechts: Fleckbeständigkeit gegen Chemikalien.

Zum Nachweis und Test des Verhaltens gegen mechanische Belastung gibt es zahlreiche Prüfmethoden und insbesondere Kratztests. Zunächst wird die Beständigkeit gegen Verkratzen durch harte Polierschwämme gezeigt. In Abbildung 34 (links) wird das Muster mittels Polierschwamm belastet, also einem Verfahren das bspw. zur Intensivreinigung von stark verschmutzten Bodenbelägen dient. Diese Belastung führt zu keinerlei sichtbarem Kratzer an der Bodenoberfläche.

Abbildung 34. Links: Kratztest mittels Polierschwamm, rechts: Kratzen mittels Erichsen-Prüfstift.

Abbildung 34 (rechts) zeigt das Schadensbild nach Kratzbelastung durch einen Erichsen-Prüfstift wie er bspw. zur Prüfung von hochwertigen Lackierungen eingesetzt wird. Hier beginnt erst bei 15 N ein Sichtbarwerden von Kratzspuren; ein für Bodenbeläge sehr gutes Ergebnis, im Stand der Technik genügen häufig 5-8 N zur Erzeugung eines vergleichbaren Schadensbildes.
Eine Beständigkeit gegenüber einem zerstörenden Kratztest weist der sog. Shawtest nach, in welchem mit 10 Doppelhüben dieselbe Stelle des Bodenbelages mit einem sehr groben Schleifpapier (P36) und zusätzlicher Gewichtsbelastung geprüft wird. Der Prüfling besteht diesen Test, wenn die Nutzschicht

intakt bleibt und nicht bis zum Dekorträger durchdrungen wird. Der Demonstrator besteht diesen Test, zur besseren Beurteilung wird ein Teil der Kratzspuren angefärbt (Abbildung 35).

Abbildung 35. Shawtest – bestanden, da Nutzschicht noch intakt ist.

Die Beständigkeit gegenüber Abrieb wird bspw. mittels Martindaletest geprüft. Hier wird ein Schleifpapier, Körnung P60 so lange in gleichmäßigen Bewegungen über das Prüfmuster geführt, bis sich eine Beschädigung des unterhalb der Nutzschicht liegenden Dekorträgers zeigt. Der Demonstrator erreicht hier mit 200 Umdrehungen einen sehr guten Wert, vergleichbar zum kommerziell erhältlichen Polyurethan-Bodenbelag der Firma Windmöller (siehe Abbildung 36).

Abbildung 36. Demonstrator nach Martindale-Abriebtest: 200 Umdrehungen.

Zusammenfassung

Es konnte eine Polyurethanrezeptur mit einem sehr hohen Anteil eines Polyols Typ **2b** im Projekt entwickelt werden (Hyfol). Dieses Hyfol erzeugte sehr gute physikalische Eigenschaften im daraus gefertigten Demonstrator und die überprüften Parameter entsprechen denen eines Bodenbelags zum Einsatz in der höchsten Nutzungsklasse 43, also einem Bodenbelag zur Anwendung in einem leichtindustriellen Umfeld.

Weiterentwicklung von PU-Schaumrezepturen zur Herstellung leichter PU-Schäume auf Basis von Polyol Typ 2b - Hyfol

Eine weitere Aufgabe im Berichtszeitraum besteht in der Weiterentwicklung der verwendeten Polyurethan-Schaumrezepturen, um die Produktion eines homogenen Schaumes niedrigen

Raumgewichtes zu zeigen. Die im Zwischenbericht gezeigten Schäume aus Hyfol wiesen bei einem Wassergehalt von 0,5-2 Gew.-% bezogen auf die eingesetzte Polyolmenge noch eine sehr grobe Schaumstruktur auf und wären daher ungeeignet zum Einsatz in bspw. Blockschäumen oder Matratzen.
Jetzt ist es gelungen durch Rezepturentwicklung bspw. einen solchen Polyurethanschaum mit 2 Gew.-% Wasseranteil bezogen auf das eingesetzte Polyol mit einem sehr gleichmäßigen Porenprofil zu erzeugen. Dazu wird die Rezeptur im Labor angemischt und anschließend in einer Schale (aus Polypropylen zur besseren Herauslösbarkeit des Schaumblockes) bei Raumtemperatur ausgehärtet. Abbildung 37 zeigt einen solchen Schäumversuch nach Abschluss der Reaktion.

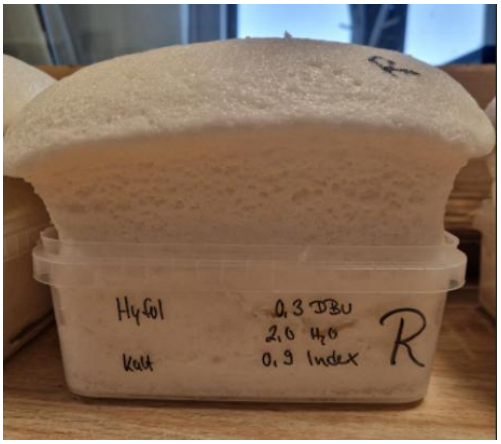


Abbildung 37. Labor-Schäumversuch.

Anschließend wird der so erzeugte Schäumling für weitere Prüfungen zersägt, aber zunächst wird die Schaumqualität optisch bewertet. Hier zeigt Abbildung 38 einen erhaltenen Prüfling mit sehr homogener Zellstruktur und entsprechend guter Schaumqualität.

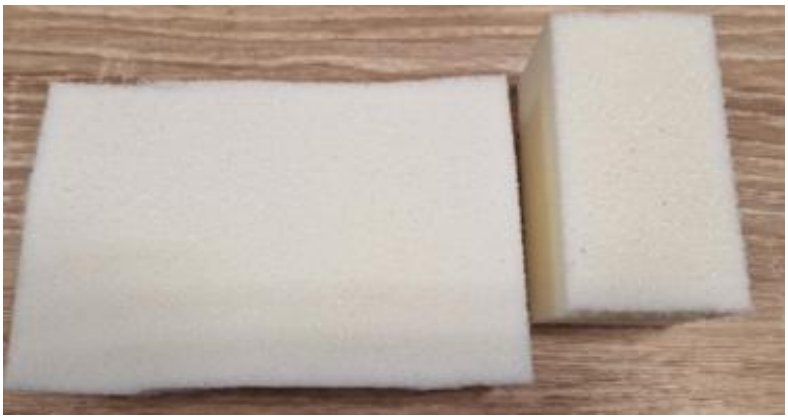


Abbildung 38. Homogener Prüfling mit gleichmäßiger Zellstruktur.

Zusammenfassung
Es konnte im Berichtszeitraum eine Schaumrezeptur entwickelt werden, welche auf der Polyolseite vollständig aus einem Polyol Typ 2b (Hyfol) besteht und bei einem Raumgewicht von 50 g/L zu einer sehr gleichmäßigen Schaumstruktur führt. Derartige Schäume scheinen geeignet für Anwendungen wie bspw. Matratzen oder auch Polstermaterialien in bspw. Sitzmöbeln oder auch Fahrzeugsitzen. Hier ist eine weitere Rezepturentwicklung und Anpassung der Schaumeigenschaften an die jeweiligen

Anforderungen sicher notwendig. Jedoch zeigen die im Projekt gesammelten Erfahrungen, dass dies mit den hergestellten Polyolen realistisch möglich ist.

2. der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die finanziellen Mittel wurden im Wesentlichen für die personelle Besetzung durch Wissenschaftler und für Verbrauchsmittel zum Bearbeiten des Projektes eingesetzt. Hinsichtlich der Personalmittel wurden ein Chemiker und ein Biochemiker jeweils für einen Teil der Projektlaufzeit eingestellt. Hinsichtlich der Sachkosten wurden in dem Projekt die Anschaffung von Verbrauchsmitteln im chemischen Bereich (Katalysatoren, Synthesegas, Lösungsmittel, Ausgangsstoffe, Materialien für die Aufarbeitung, Verbrauchsmaterial wie Spritzen und Filter), für den biochemischen Bereich (Nährmedien und Reagenzien zum Herstellen der Enzyme, Säulenmaterial zum Aufreinigen der Enzyme, Verbrauchsmaterial wie Pipettenspitzen und Reaktionsgefäße) und für den analytischen Bereich (Lösungsmittel, Einweg-Gefäße) finanziert. Alle Materialien wurden sparsam eingesetzt.

3. der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Das Projekt wurde von Seiten der Universität Bielefeld von einem Chemiker und einem Biochemiker bearbeitet. Da es durch die beiden chemo- als auch biokatalytischen Syntheserouten wissenschaftlich vielseitig, sehr interdisziplinär ausgerichtet und wissenschaftlich hochanspruchsvoll war, war der Einsatz zweier komplementär ausgebildeter Wissenschaftler in diesem Projekt sinnvoll und notwendig. Die Besetzung mit einem Biochemiker, der auf dem Feld der Enzymkatalyse und Enzymstrukturen Vorerfahrung mitbrachte und mit einem Chemiker, der bereits vorher mit Hochdruckreaktionen gearbeitet hatte, ermöglichte eine fundierte, umfassende Bearbeitung des Projektes auch in Phasen, in denen die Ergebnisse noch nicht die gewünschten Ziele abbildeten, sondern teils alternative Ansätze entwickelt werden mussten. Auf diese Weise konnte das Projekt sehr erfolgreich bearbeitet und mit attraktiven und vielversprechenden wissenschaftlichen „*highlights*“ ebenso wie mit einer interessanten Perspektive für eine wirtschaftliche Verwertung (siehe hierzu auch die Ergebnisse der Windmöller-Gruppe sowie deren Einschätzung mit Blick auf eine industrielle Anwendung im Abschnitt c-VI zu Anwendungstests) abgeschlossen werden.

4. des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die angestrebte Verwertbarkeit zu diesem Projektvorhaben der Entwicklung von bio-basierten Polyolen auf Basis von Pflanzenölen („BioPolyole-II“) wird perspektivisch als unverändert vielversprechend eingeschätzt. So sind neben den interessanten wissenschaftlichen Erkenntnissen (so zur Hydroformylierung von Pflanzenölen aber auch zur Enzymkatalyse) auch konkrete wirtschaftliche Erfolgsaussichten erkennbar bzw. absehbar, wobei dies insbesondere das zweite Prozesskonzept B und die damit verbundenen Produktmuster (gemäß Arbeiten an der Universität Bielefeld) sowie die erfolgreichen Anwendungstests beim Industriepartner Windmöller mit unter anderem erfolgreichen Schaumstoffherstellungen betrifft.
Beim Prozesskonzept B konnten in der akademisch-industriellen Zusammenarbeit zwischen Universität Bielefeld und der Firmengruppe des Wirtschaftsexperten, Herrn Ulrich Windmöller, Musterproben hergestellt und intensiv mit Blick auf industrielle Anwendungen evaluiert werden, sodass diese neuartigen biobasierten Polyurethanschäume eine interessante Perspektive für eine

zukünftige Kommerzialisierung im Bereich der Polyurethan-basierten Bodenbeläge eröffnen. Die dabei beobachteten hervorragenden Eigenschaften der erzeugten lichtechten und abriebfesten Polyurethanbeschichtungen mit Polyolen des Typs **2b**, haben neben der Eignung für Bodenbeläge vermutlich auch eine sehr gutes Eigenschaftsprofil für die Beschichtung weiterer, höherwertiger Wirtschaftsgüter. Die besonders hohen Anforderungen, welche an solche Schichten bei Bodenbelägen gestellt werden, ähneln in vielen Parametern auch den Ansprüchen an bspw. Fahrzeuglackierungen. Dies legt den Schluss nahe, dass die so erzeugten Polyole auch in Beschichtungen für Kraftfahrzeuge, aber auch zur Beschichtung von Schienenfahrzeugen und Luftfahrzeugen eingesetzt werden können, wobei diese Aufzählung hier sicherlich noch fortgeführt werden kann. Nachfolgend sei ein ausgewähltes „*highlight*“ auf diesem Gebiet kurz skizziert. So wurden von Windmöller auf Basis der "Bielefelder BioPolyole" mittels dortiger Polyurethan-Rezeptur Fußbodenbeläge-Nutzschichten generiert. Im Detail konnte eine Polyurethanrezeptur mit einem sehr hohen Anteil eines Polyols Typ **2b** im Projekt entwickelt werden (Hyfol). Dieses Hyfol erzeugte sehr gute physikalische Eigenschaften im daraus gefertigten Demonstrator und die überprüften Parameter entsprechen denen eines Bodenbelages zum Einsatz in der höchsten Nutzungsklasse 43, also einem Bodenbelag zur Anwendung in einem leichtindustriellen Umfeld.

Zudem haben die hergestellten „leichten“ Polyurethanschäume eine besonders hohe wirtschaftliche Bedeutung, als Beispiele seinen hier sogenannte Weichschäume und Hartschäume genannt. Der Polyolanteil im Polyurethanpolymer und damit der Anteil an schnell nachwachsenden und erneuerbaren Rohstoffen (insbesondere Kohlenstoff) kann hier deutlich höher sein als im bisherigen Stand der Technik. Die Erhöhung dieses Anteils ist Gegenstand sehr umfangreicher Entwicklungsarbeiten in der Polyurethanindustrie und hier kann mit Polyolen des Typs **2b** ein deutlicher Fortschritt erreicht werden. Auch hier sei ein ausgewähltes „*highlight*“ im Detail exemplarisch skizziert: Hier konnte von Windmöller eine Schaumrezeptur auf Basis der BioPolyole unter Generierung von Schaumstoffen entwickelt werden, welche auf der Polyolseite vollständig aus einem Polyol Typ 2b (Hyfol) besteht und bei einem Raumgewicht von 50 g/L zu einer sehr gleichmäßigen Schaumstruktur führt. Derartige Schäume scheinen geeignet für Anwendungen wie bspw. Matratzen oder auch Polstermaterialien in beispielsweise Sitzmöbeln oder auch Fahrzeugsitzen.

Aus prozesstechnischer Perspektive weist zudem nach unserer Einschätzung das hier vorgeschlagene Prozesskonzept B ökonomische Vorteile auf gegenüber den bisher bekannten und patentierten Konzepten wie bspw. dem Verfahren der Firma DOW (US Patent US 2010/0087350 A1, 2008). Hier wird zunächst ein Pflanzenöl einer Methanolyse unterzogen und die so entstehenden Methylester der Fettsäuren hydroformyliert und hydriert. Anschließend wird zu einem mehrfunktionellen Polyol verestert. Die Vielzahl der Prozess-Schritte führt dazu, dass bis nach unserem Kenntnisstand keine industriellen Mengen (100 Tonnen bis mehrere 1.000 Tonnen) solcher Polyole kommerziell derzeit zu attraktiven Preisen erhältlich sind. Die hier vorgeschlagenen Konzepte im Prozesskonzept B könnten einen wirtschaftlichen Erfolg ermöglichen, wobei noch eine Herausforderung in der Wiedergewinnung des Katalysatorsystems und dessen Wiederverwendung in einer hohen Zahl an Reaktionszyklen (aufgrund des hohen Preises für Rhodium als Metall-Komponente des Katalysators) besteht.

Darüber hinaus ist aber als Projektbereich einer weiteren wirtschaftlichen Anschlussfähigkeit auch die Nutzung der im Prozesskonzept B hergestellten BioPolyole für völlig andere Anwendungen als die beim Windmöller-Unternehmen anvisierten Bodenbelege und Schaumstoffe denkbar und dies soll von Seiten der Universität Bielefeld in Folgeprojekten dann weiter untersucht werden. Im Fokus könnten hier unterschiedlichste Anwendungen als Komponente für Polyester (statt auf fossilen Rohstoffen beruhenden Diolen und Triolen) stehen, ebenso wie als Grundkomponente für andere Vernetzungsreaktionen im Kunststoffbereich.

Neben diesen kommerziellen Verwertungsperspektiven für die erzielten biobasierten Polyol-Produkte bieten aber auch die erhaltenen wissenschaftlichen Erkenntnisse bei der untersuchten und entwickelten Hydroformylierung wissenschaftliche Perspektiven für Anschlussprojekte im akademischen Bereich. Im Detail sind Anschluss-Förderprojekte zu Strategien zur Wiedergewinnung des Rh-Katalysators und dessen Wiederverwendung basierend auf den erzielten Projektergebnissen denkbar und könnten aufgrund auch der ökonomischen Relevanz zusammen mit der Wirtschaft durchgeführt werden. Hintergrund und Motivation aus ökonomischer Sicht hierfür ist, dass mit dem

inzwischen stark gestiegenen Rhodium-Preis (der zwischenzeitlich bei >1.000.000 $/Kg lag!) einhergehend, effiziente Prozesskonzepte für die unveränderte ökonomische Anwendung im industriellen Maßstab benötigt werden, gerade mit Blick auf sogenannte „Bulk-Chemikalien“ mit Produktpreisen im Bereich von <10 EUR/Kg.
Im Bereich der Grundlagenforschung stellt die in diesem Vorhaben aufgezeigte grundsätzliche Eignung von mehreren Fettsäurehydratasen zur Hydratisierung von Fettsäureestern statt dem nativen Fettsäure-Substrat eine weitere Perspektive für zukünftige Verwertungen dar, wobei hier zunächst ein noch tieferes Verständnis der Hydratasen zunächst im Fokus der Untersuchungen stehen würde.

5. des während der Durchführung dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Nach unserer Kenntnis liegt kein solcher Fortschritt vor.

6. der erfolgten oder geplanten Veröffentlichung des Ergebnisses nach Nr. 6

Bislang sind keine Veröffentlichungen aus den Forschungsarbeiten entstanden, es sind aber solche geplant. Es stehen noch einige abrundende Arbeiten aus, um die Experimente für zur Veröffentlichung angedachtes Manuskript dann zusammenfassen zu können.

Literatur-Verzeichnis

[1] M. Gajdoš, J. Wagner, F. Ospina, A. Köhler, M. K. M. Engqvist, S. C. Hammer, *Angew. Chem.* **2023**, *62*, e202215093.

[2] M. Engleder, T. Pavkov-Keller, A. Emmerstorfer, A. Hromic, S. Schrempf, G. Steinkellner, T. Wriessnegger, E. Leitner, G. A. Strohmeier, I. Kaluzna et al., *ChemBioChem* **2015**, *16*, 1730.

[3] L. E. Bevers, M. W. H. Pinkse, P. D. E. M. Verhaert, W. R. Hagen, *J. Bacteriology* **2009**, *191*, 5010.

[4] R. M. Demming, K. B. Otte, B. M. Nestl, B. Hauer, *ChemCatChem* **2017**, *9*, 758.

[5] M. Takeuchi, S. Kishino, A. Hirata, S.-B. Park, N. Kitamura, J. Ogawa, *J. Biosci. Bioengin.* **2015**, *119*, 636.

[6] R. M. Demming, S. C. Hammer, B. M. Nestl, S. Gergel, S. Fademrecht, J. Pleiss, B. Hauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 173.

[7] M. Engleder, G. A. Strohmeier, H. Weber, G. Steinkellner, E. Leitner, M. Müller, D. Mink, M. Schürmann, K. Gruber, H. Pichler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 7480.

[8] A. Castagna, D. de Simeis, E. E. Ferrandi, S. Marzorati, D. Monti, S. Serra, M. Valentino, *Catalysts* **2020**, *10*, 1122.

[9] J. Schmid, L. Steiner, S. Fademrecht, J. Pleiss, K. B. Otte, B. Hauer, *J. Mol. Catal B: Enzymatic* **2016**, *133*, S243-S249.

[10] W.-R. Kang, M.-J. Seo, K.-C. Shin, J.-B. Park, D.-K. Oh, *Biotechnol. Bioengin.* **2017**, *114*, 74.

[11] K. Magnuson, S. Jackowski, C. O. Rock, J. E. Cronan, *Microbiol. Rev.* **1993**, *57*, 522.

[12] W. A. Lathram, R. J. Neff, A. N. Zalla, J. D. Brien, V. Subramanian, C. D. Radka, *Frontiers Mol. Biosci.* **2024**, *11*, 1504373.

[13] S. Serra, D. de Simeis, S. Marzorati, M. Valentino, *Catalysts* **2021**, *11*, 1051.

[14] A. J. Zehnder, K. Wuhrmann, *Science* **1976**, *194*, 1165.

[15] a) A. Volkov, A. Liavonchanka, O. Kamneva, T. Fiedler, C. Goebel, B. Kreikemeyer, I. Feussner, *The J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 10353; b) A. Volkov, S. Khoshnevis, P. Neumann, C. Herrfurth, D. Wohlwend, R. Ficner, I. Feussner, *Acta crystallographica. Section D, Biol. Cryst.* **2013**, *69*, 648; c) B. E. Eser, M. Poborsky, R. Dai, S. Kishino, A. Ljubic, M. Takeuchi, C. Jacobsen, J. Ogawa, P. Kristensen, Z. Guo, *ChemBioChem* **2020**, *21*, 550.

[16] a) L. E. Bevers, M. W. H. Pinkse, P. D. E. M. Verhaert, W. R. Hagen, *J. Bacteriol.* **2009**, *191*, 5010; b) E. N. Davis, L. L. Wallen, J. C. Goodwin, W. K. Rohwedder, R. A. Rhodes, *Lipids* **1969**, *4*, 356.

[17] W. Leitner (Ed.) *Topics in Organometallic Chemistry*, *Vol. 23*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2008**.

[18] K. Cousin, B. Quienne, J. Pinaud, S. Caillol, E. Monflier, F. Hapiot, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2020**, *122*, 2000158.

[19] J. Feldman, I. W. Shim, M. Orchin, *J. Appl. Polymer Sci.* **1987**, *34*, 969.

[20] D. N. Gorbunov, M. V. Nenasheva, R. P. Matsukevich, M. V. Terenina, Y. S. Kardasheva, E. A. Karakhanov, *Pet. Chem.* **2021**, *61*, 688.

[21] Q. Sun, M. Jiang, Z. Shen, Y. Jin, S. Pan, L. Wang, X. Meng, W. Chen, Y. Ding, J. Li et al., *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 11844.

[22] A. Riisager, R. Fehrmann, M. Haumann, B. S. K. Gorle, P. Wasserscheid, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 9853.

[23] W. A. Herrmann, G. P. Albanese, R. B. Manetsberger, P. Lappe, H. Bahrmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 811.

[24] a) H. N. T. Ha, D. T. Duc, T. V. Dao, M. T. Le, A. Riisager, R. Fehrmann, *Catal. Commun.* **2012**, *25*, 136; b) M. Haumann, K. Dentler, J. Joni, A. Riisager, P. Wasserscheid, *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 425; c) A. Riisager, R. Fehrmann, S. Flicker, R. van Hal, M. Haumann, P. Wasserscheid, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 815.